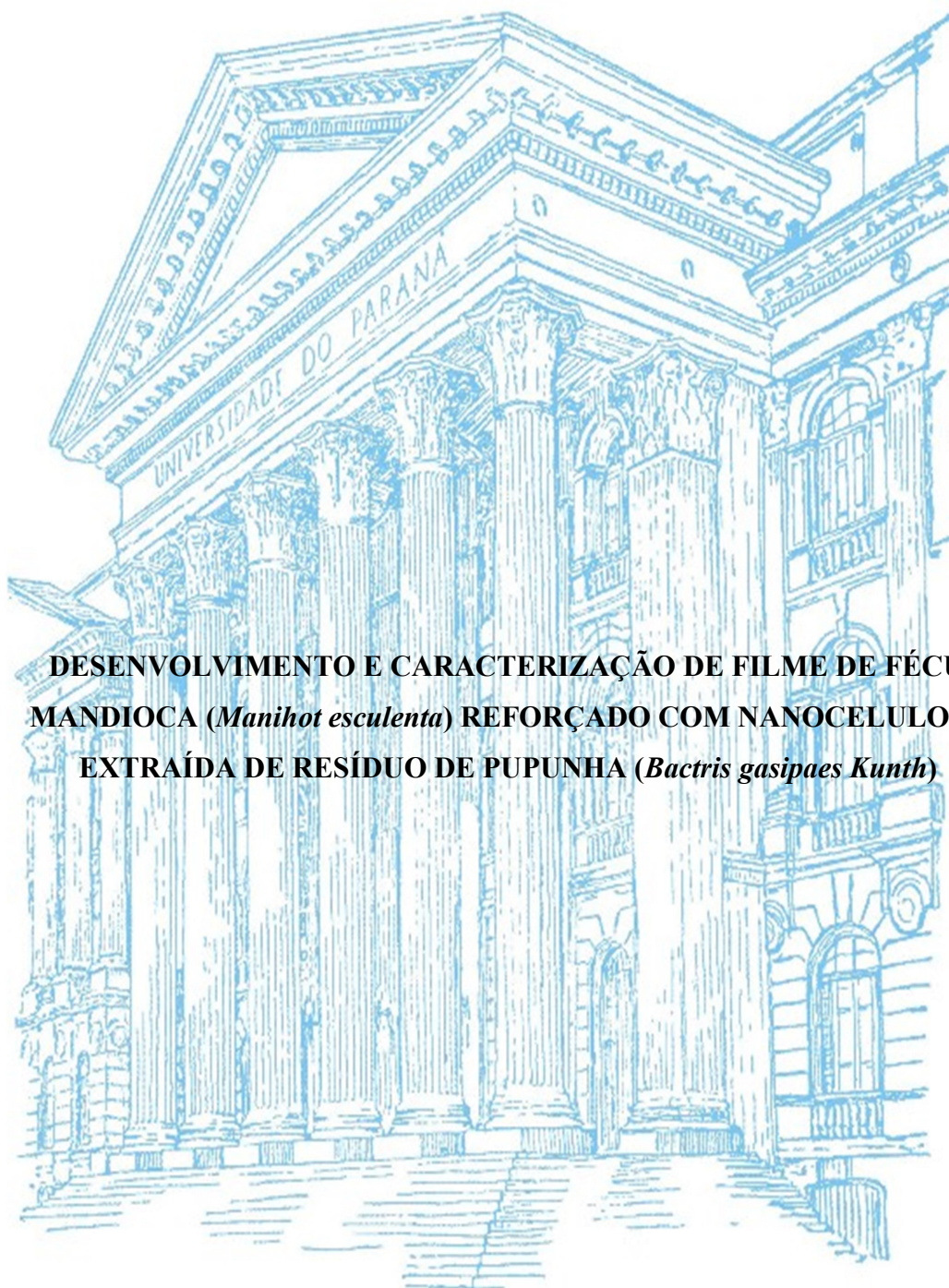


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

MARIANA PEREIRA MARTINS



**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE FILME DE FÉCULA DE
MANDIOCA (*Manihot esculenta*) REFORÇADO COM NANOCELULOSE
EXTRAÍDA DE RESÍDUO DE PUPUNHA (*Bactris gasipaes Kunth*)**

CURITIBA

2017

MARIANA PEREIRA MARTINS

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE FILME DE FÉCULA DE
MANDIOCA (*Manihot esculenta*) REFORÇADO COM NANOCELULOSE
EXTRAÍDA DE RESÍDUO DE PUPUNHA (*Bactris gasipaes Kunth*)**

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em ENGENHARIA DE ALIMENTOS, no Curso de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Setor de tecnológica, da Universidade Federal do Paraná.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Maria Lucia Masson
Coorientador: Dr. João Luiz Andreotti Dagostin

CURITIBA

2017

M386d

Martins, Mariana Pereira

Desenvolvimento e caracterização de filme de fécula de mandioca (*Manihot esculenta*) reforçado com nanocelulose extraída de resíduo de pupunha (*Bactris gasipaes* Kunth) / Mariana Pereira Martins. – Curitiba, 2017.

106 f. : il. color. ; 30 cm.

Dissertação - Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, 2017.

Orientadora: Maria Lucia Masson.

Coorientador: João Luiz Andreotti Dagostin.

1. Nanofibrila. 2. Pupunha. 3. Óleo essencial de cravo. 4. Sorbato de potássio.

I. Universidade Federal do Paraná. II. Masson, Maria Lucia. III. Dagostin, João Luiz Andreotti. IV. Título.

CDD: 664.8



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
Setor TECNOLOGIA
Programa de Pós-Graduação ENGENHARIA DE ALIMENTOS

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em ENGENHARIA DE ALIMENTOS da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **MARIANA PEREIRA MARTINS** intitulada: **DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE FILME DE FÉCULA DE MANDIOCA (*Manihot esculenta*) REFORÇADO COM NANOCELULOSE EXTRAÍDA DE RESÍDUO DE PUPUNHA (*Bactris gasipaes* Kunth)**, após terem inquirido a aluna e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

Curitiba, 25 de Agosto de 2017.


MARIA LUCIA MASSON

Presidente da Banca Examinadora (UFPR)


LARISSA CANHADAS BERTAN

Avaliador Externo (UFFS)


DANIELLE CARPINE

Avaliador Externo (UFPR)

Dedico este trabalho aos meus pais que
sempre apoiaram minhas decisões e estão
presentes me dando força para não desistir da
caminhada.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Universidade Federal do Paraná (UFPR) pelo programa de pós graduação. Ao programa de pós graduação em engenharia de alimentos (PPGEAL) pela oportunidade e a capes Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida para realização do mestrado.

Aos laboratórios: Centro Microscopia Eletrônica de Varredura (CMEV), Central analítica, Laboratório de Polpa e Papel – Engenharia Florestal, FTIR / TD-NMR – Química, Tecnologia de Alimentos pelos espaços cedidos e pelas realizações de análises.

Aos meus pais, Maristela e Waldemar, por sempre acreditarem em mim e por estarem ao meu lado em todos os momentos.

A professora Dra Maria Lucia Masson, por ter me aceito como orientada e ter confiado e acreditado no meu trabalho. Pela amizade, dedicação como orientadora, pela compreensão e toda a ajuda durante esse período.

Ao Dr João Dagostin, pela coorientação e por toda a troca de conhecimento nestes dois anos. Pela amizade e confiança. Por ter me colocado nesse universo de filmes com o qual eu me identifiquei e adorei ter trabalhado.

A Talita pela parceria no projeto dos filmes e por toda ajuda com algumas análises e extração.

Aos grandes amigos (Rayssa, Grazi, Roma, Ithiara, Luana e Suelen), pela amizade, companheirismo, os momentos de estudos e rizadas e por toda ajuda que me deram nesse período. A Cris pela amizade e por ter me ajudado com as análises microbiológicas me levando a aprender a gostar de microbiologia. Ao Roma por toda a ajuda com as análises da segunda parte do trabalho. Ao amigo Gilberto pela acolhida logo quando cheguei em Curitiba e pela amizade nesses muitos anos. A Rayssa pelo companheirismo, pela ajuda mesmo antes de nos conhecermos e por termos chegado ao final dessa etapa juntas. Sua amizade foi um presente nesse período de Curitiba. A Grazi pela amizade, parceria e ajuda em todos os momentos. A amiga Lorena, que mesmo distante, sempre esteve presente acreditando que tudo daria certo.

Aos técnicos de laboratório que sempre estiveram dispostos em ajudar com o seu conhecimento e disposição, em especial a Andrea Biagioni pela grande ajuda com as análises térmicas.

Ao ex secretário Paulo, por toda a ajuda com a parte burocrática e pelos bons papos que sempre tivemos.

“Só se vê bem com o coração, o
essencial é invisível aos olhos.”

(Antoine de Saint-Exupéry, 1943)

RESUMO

O objetivo deste trabalho, foi avaliar o efeito da incorporação de diferentes concentrações de nanofibrila de celulose (NFC), isoladas de bainhas externas de palmito pupunha (*Bactris gasipaes*), sobre as propriedades de filmes de amido de mandioca. A NFC foi produzida por desfibrilação mecânica, que possibilitou a obtenção de nanofibrilas com diâmetros variando entre 10 nm e 30 nm. Os filmes foram caracterizados por microscopia eletrônica de varredura (MEV), análises térmicas (TG/TGA), permeabilidade ao vapor de água (PVA), grupos funcionais (FTIR), testes mecânicos (Força de tensão e alongação), caracterização física (solubilidade, umidade, atividade de água e espessura) e análises ópticas. A incorporação da NFC como reforço provocou alterações em todas as propriedades analisadas, os diferenciando do filme controle (sem a adição do reforço). O principal efeito observado foi o de reforço físico dos filmes, fator confirmado pelas análises mecânicas e de permeabilidade ao vapor de água. Estas análises confirmaram o aumento da força de tensão em 306% e redução de 26% da PVA para filmes com 0,33% de nanofibrilas, quando comparados ao filme sem a incorporação da NFC. Sendo assim, a partir dos resultados das análises anteriores, foi possível produzir um filme com capacidade antimicrobiana a partir da incorporação de óleo essencial de cravo (OEC) e sorbato de potássio (SP) ao filme com maiores valores de força de tensão e menor PVA. Os filmes com OEC e sorbato (1,5% e 2,0%, respectivamente) inibiram o crescimento microbiano de quatro microrganismos testados (*Salmonella choleraesuis*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, e *Escherichia coli*) sendo que o poder de inibição foi maior para o *Bacillus cereus* e *Staphylococcus aureus* com halos de inibição de 11,6 mm e 11 mm, respectivamente. Já o filme incorporado apenas de sorbato apresentou inibição apenas para o *Staphylococcus aureus* (halo de inibição de 8,2 mm). A presença dos agentes antimicrobianos influenciaram em todas as características dos filmes, exceto a PVA que se manteve igual para a formulação com maior concentração de óleo (1,5%). Com isso, filmes ativos foram desenvolvidos com possível aplicação como embalagens de alimentos, com eficiente ação antimicrobiana para os microrganismos testados, além de, provavelmente, proporcionarem uma barreira eficiente contra a passagem de luz pela baixa transparência apresentada.

Palavras-chave: Nanofibrila. Filmes ativos. Palmito de pupunha; atividade antimicrobiana, óleo essencial de cravo; sorbato de potássio.

ABSTRACT

In this study, it was evaluated the effect of incorporation of different concentrations of cellulose nanofibrils (NFC), isolated from the external sheaths of palm peach (*Bactris gasipaes*), on the properties of cassava starch films. NFC was produced by mechanic defibrillation, which allowed the obtaining of nanofibrils with diameters ranging between 10 nm and 30 nm. The films were characterized by scanning electron microscopy (SEM), Thermal Analysis (TG/TGA), water vapor permeability (WVP), functional groups (FTIR), mechanical tests (tensile strength and elongation), physical characterization (solubility, humidity, water activity and thickness) and optical analysis. The incorporation of NFC as reinforcement led to changes in all the properties analyzed, thus differing from the film control (without the addition of reinforcement). The main effect observed was the films physical reinforcement, factor confirmed by mechanical and permeability analysis. Furthermore, such analyses confirmed the increase in tensile strength in 306% and reduction in 26% of WVP for films with 0.33% of nanofibrils, when compared to the film without the NFC incorporation. Based on the results of the previous analyzes, it was possible to produce a film with antimicrobial capacity from the incorporation of clove essential oil (OEC) and potassium sorbate to the film with better mechanical characteristics and PVA. OEC and sorbate films (1.5% and 2.0%, respectively) inhibited the microbial growth of four microorganisms tested (*Salmonella cholereasius*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, and *Escherichia coli*) and the inhibition power was higher for *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus* with inhibition halos of 11.6 mm and 11 mm, respectively. In contrast, the film incorporated only of sorbate showed inhibition only for *Staphylococcus aureus* (inhibition halo of 18.2 mm). The presence of antimicrobial agents influenced all the characteristics of the films, except PVA, which remained the same for the formulation with the highest concentration of oil (1.5%). Thus, active films were developed with possible application as food packaging, with efficient antimicrobial action for the tested microorganisms, and, probably, to provide an efficient barrier against the passage of light due to the presented low transparency.

Key-words: Nanofibril. Active films. Beach Palm, Clove essential oil, Active films, Antimicrobial Activity, Potassium Sorbate.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - ESTRUTURAS DOS DIFERENTES TIPOS DE NANOCELULOSE.....	26
FIGURA 2- BAINHA EXTERNA DO PALMITO DE PUPUNHA, RESÍDUO GERADO DURANTE A PRODUÇÃO DO PALMITO.....	35
FIGURA 3 - PROCEDIMENTO DE PREPARO DOS FILMES BIODEGRADÁVEIS.....	46
FIGURA 4 - CÉLULAS DE PERMEAÇÃO PARA O CÁLCULO DA PVA – SISTEMA COMPLETO.....	50
FIGURA 5- MICROGRAFIAS OBTIDAS A PARTIR DA SOLUÇÃO DE NANOFIBRILA DE RESÍDUO DE PUPUNHA. A) MEV – 50 000 X B) MET DE NANOFIBRAS COM DIFERENTES DIMENSÕES.	59
FIGURA 6 - (a) ALFAJOR EMBALADOS EM EMBALAGENS CONVENCIONAIS E (b) AIFAJOR EMBALADO NO FILME DE FORMULAÇÃO 3 DESENVOLVIDOS NESTE TRABALHO.	64
FIGURA 7- IMAGENS DOS FILMES DESENVOLVIDOS. FORMULAÇÕES: (CONTROLE) FILME SEM ADIÇÃO DE NFC; (1) – FILME COM 0,25% DE NFC; (2) – FILME COM 0,29% DE NFC; (3) – FILME COM 0,33% DE NFC; (4) – FILME COM 0,37% DE NFC.....	65
FIGURA 8- MICROGRAFIAS OBTIDAS DA SUPERFÍCIE E SEÇÃO TRANSVERSAL DOS FILMES ESTUDADOS. A) SUPERFÍCIE FORMULAÇÃO CONTROLE, B) SEÇÃO TRANSVERSAL FORMULAÇÃO CONTROLE, C) SUPERFÍCIE FORMULAÇÃO 1, D) SEÇÃO TRANSVERSAL FORMULAÇÃO 1 , E) SUPERFÍCIE FORMULAÇÃO 2, F) SEÇÃO TRANSVERSAL FORMULAÇÃO 2, G) SUPERFÍCIE FORMULAÇÃO 3, H) SEÇÃO TRANSVERSAL FORMULAÇÃO 3, I) SUPERFÍCIE FORMULAÇÃO 4, J) SEÇÃO TRANSVERSAL FORMULAÇÃO 4.	68
FIGURA 9- A) CURVAS DE DEGRADAÇÃO TÉRMICA DOS FILMES: FORMULAÇÃO CONTROLE, FORMULAÇÃO 1, FORMULAÇÃO 2, FORMULAÇÃO 3 E FORMULAÇÃO 4; E B) CURVAS DTG.	69
FIGURA 10-ESPECTRO ATR/FTIR DOS FILMES DESENVOLVIDOS: FORMULAÇÃO CONTROLE, 1, 2, 3 E 4.	70
FIGURA 11 - - INIBIÇÕES APRESENTADAS PARA DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE ÓLEO ESSENCIAL: (a) 0,005 ML DE ÓEC; (b) 0,006 ml de OEC; (c) 0,007 ml de OEC; (d) 0,008 ml de OEC; (e) CONTROLE POSITIVO.	75

FIGURA 12 - IMAGENS REPRESENTATIVAS DOS HALOS DE INIBIÇÃO APRESENTADO PELOS FILMES. a) FORMULAÇÃO 3F; b) FORMULAÇÃO 2D E c) FORMULAÇÃO 1S.....	78
FIGURA 13 - ALFAJORES EMBALADOS: a) FORMULAÇÃO 3F (1,5% DE ÓEC) E b) FORMULAÇÃO CONTROLE.....	83
FIGURA 14- IMAGENS FILMES ATIVOS. 1S, 2D E 3 F.	83
FIGURA 15- MICROGRAFIAS SUPERFÍCIE E SEÇÃO TRANSVERSAL DOS FILMES ATIVOS. a) SUPERFÍCIE FORMULAÇÃO CONTROLE, b) SEÇÃO TRANSVERSAL FORMULAÇÃO CONTROLE, c) SUPERFÍCIE FORMULAÇÃO 1S, d) SEÇÃO TRANSVERSAL FORMULAÇÃO 1S , e) SUPERFÍCIE FORMULAÇÃO 2D, f) SEÇÃO TRANSVERSAL FORMULAÇÃO 2D, g) SUPERFÍCIE FORMULAÇÃO 3F, h) SEÇÃO TRANSVERSAL FORMULAÇÃO 3F.	86
FIGURA 16 - CURVAS TGA (A) E DTG (B) DOS FILMES: ATIVOS E CONTROLE.	87
FIGURA 17 - ESPECTROS ATR/FTIR DOS FILMES ATIVOS DESENVOLVIDOS.....	88

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - LEVANTAMENTO DOS DIVERSOS RESÍDUOS UTILIZADOS PARA EXTRAÇÃO DE NANOCELOCELULOSE.....	28
TABELA 2 - COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA BAINHA EXTERNA DA PUPUNHA.....	35
TABELA 3 - ESTUDOS RECENTES COM APLICAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL COM AÇÃO ANTIMICROBIANA.	38
TABELA 4 - PARÂMETROS AVALIADOS E CONDIÇÕES TESTADAS.....	42
TABELA 5- FORMULAÇÕES E CONCENTRAÇÕES (g/ 100 g de água) ESTUDADAS: AMIDO DE MANDIOCA (AM), GLICEROL (G) E SOLUÇÃO DE NANOFIBRILA DE CELULOSE (SNFC).	44
TABELA 6- FORMULAÇÕES E CONCENTRAÇÕES (G/ 100 G DE ÁGUA) ESTUDADAS: CONC. AMIDO DE MANDIOCA (AM), CONC. GLICEROL (G), CONC. SOLUÇÃO DE NANOFIBRILA DE CELULOSE (SNFC), CONC. ÓLEO ESSENCIAL DE CRAVO (OEC) E CONC. SORBATO DE POTÁSSIO (SP).....	55
TABELA 7 - PARÂMETROS AVALIADOS E CONDIÇÕES ESCOLHIDAS PARA CADA PARÂMETRO	56
TABELA 8- CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES APÓS 7 DIAS EM DESSECADOR COM UMIDADE E TEMPERATURA CONTROLADA (58% , 25 °C): ESPESSURA (E), UMIDADE (U), ATIVIDADE DE ÁGUA (AW) , SOLUBILIDADE (S) E PERMEABILIDADE AO VAPOR DA ÁGUA (PVA).....	60
TABELA 9 - PARÂMETROS DE COR NA ESCALA CIELAB (L*, A*, B*), VARIAÇÃO GLOBAL DE COR (ΔE^*) E TRANSPARÊNCIA (T) DOS FILMES.....	63
TABELA 10 - PROPRIEDADES MECÂNICAS DOS FILMES: FORÇA DE TRAÇÃO (T) E ELASTICIDADE (ϵ).	65
TABELA 11 - HALO DE INIBIÇÃO (MM) OBTIDO ATRAVÉS DA IMPREGNAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE CRAVO EM FILME DE PAPEL ESTÉRIL DE 20 MM DE DIÂMETRO.	74
TABELA 12 - PORCENTAGEM DE INIBIÇÃO (%) OBTIDO ATRAVÉS DA IMPREGNAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE CRAVO EM FILME DE PAPEL ESTÉRIL DE 20 MM DE DIÂMETRO.	74
TABELA 13 - HALO DE INIBIÇÃO (MM) OBTIDO A PARTIR DOS FILMES (30 MM DE DIÂMETRO) INCORPORADOS DE ÓLEO ESSENCIAL DE CRAVO E SORBATO DE POTÁSSIO.....	76

TABELA 14 - PORCENTAGEM DE INIBIÇÃO (%) OBTIDO A PARTIR DOS FILMES (30 MM DE DIÂMETRO) INCORPORADOS DE ÓLEO ESSENCIAL DE CRAVO E SORBATO DE POTÁSSIO.	76
TABELA 15- CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES ATIVOS APÓS 7 DIAS EM DESSECADOR COM UMIDADE E TEMPERATURA CONTROLADA (58% , 25 °C): ESPESSURA (E), UMIDADE (U), ATIVIDADE DE ÁGUA (AW) , SOLUBILIDADE (S) E PERMEABILIDADE AO VAPOR DA ÁGUA (PVA).	79
TABELA 16 - PARÂMETROS DE COR NA ESCALA CIELAB (L*, A*, B*), VARIAÇÃO GLOBAL DE COR (ΔE^*) E TRANSPARÊNCIA (T) DOS FILMES ATIVOS.	81
TABELA 17 - PROPRIEDADES MECÂNICAS DOS FILMES ATIVOS: FORÇA DE TRAÇÃO (FT) E ELASTICIDADE (ϵ).	83

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABIPLAST	- Associação Brasileira das Indústrias de Plástico
IBGE	- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
MEV	- Microscopia Eletrônica de Varredura
FTIR	- Espectroscopia de infravermelho com Transformada de Fourier
S	- Solubilidade
CONT	- Controle
NFC	- Nanofibrilas de celulose
NCC	- Nanocristais de celulose
TEM	- Microscopia Eletrônica de Transmissão
OEC	- Óleo Essencial de Cravo
SP	- Sorbato de Potássio
U	- Umidade
FT	- Força de Tração
ϵ	- Elasticidade
AM	- Amido
G	- Glicerol
PVA	- Permeabilidade ao Vapor da Água
E	- Espessura
A_w	- Atividade de água
ΔE	- Variação total de cor
T	- Transparência
FDA -	Food and Drug Administration

SUMÁRIO

1	Introdução.....	15
1.1	OBJETIVOS.....	17
	Objetivo Geral	17
	Objetivos Específicos	17
2	revisão de literatura	18
2.1	EMBALAGENS PLÁSTICAS	18
2.2	EMBALAGENS BIODEGRADÁVEIS	19
2.3	AMIDO	20
	Amido de mandioca.....	22
2.4	NANOTECNOLOGIA.....	23
2.5	CELULOSE.....	24
	Nanofibrilas de Celulose (NFC)	25
2.6	RESÍDUO DE PUPUNHA	34
2.7	ÓLEO ESSENCIAL DE CRAVO COMO FATOR ANTIMICROBIANO	35
2.8	SORBATO DE POTÁSSIO	39
2.9	CONSIDERAÇÕES GERAIS	39
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	41
3.1	MATERIAL	41
3.2	MÉTODOS.....	41
3.2.1.	ENSAIOS PRELIMINARES: PREPARO E OBTENÇÃO DOS FILMES	41
3.2.2.	PREPARO E OBTENÇÃO DA NANOFIBRILA (NFC)	43
3.2.3.	PREPARO DOS FILMES.....	44
3.2.4.	CARACTERIZAÇÃO DA NANOFIBRILA.....	47
3.2.5.	CARACTERIZAÇÃO DO AMIDO COMERCIAL.....	47
3.2.6.	CARACTERIZAÇÃO FÍSICA DOS FILMES.....	48
	Espessura	48
	Umidade	48
	Atividade de água	49
	Solubilidade em Água	49
	Permeabilidade ao vapor d'água.....	49
3.2.7.	PROPRIEDADES ÓPTICAS	51
	Transparência.....	51

3.2.8.	PROPRIEDADES MECÂNICAS.....	51
	RESISTÊNCIA E ELASTICIDADE	51
3.2.9.	MORFOLOGIA DOS FILMES	52
	Microscopia Eletrônica de Varredura – MEV	52
3.2.10.	PROPRIEDADES TÉRMICAS	53
	ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (TGA)	53
3.2.11.	ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER – FTIR	53
3.2.12.	ATIVIDADE ANTIMICROBIANA - MÉTODO DE DIFUSÃO EM DISCO	53
3.2.13.	PREPARO DOS FILMES ATIVOS	54
4	apresentação dos resultados.....	56
4.1	RESULTADOS PRELIMINARES	56
4.2	CARACTERIZAÇÃO DO AMIDO COMERCIAL.....	58
4.3	CARACTERIZAÇÃO DA NANOCELULOSE.....	59
4.4	CARACTERIZAÇÃO FÍSICA DOS FILMES.....	59
4.5	PROPRIEDADES ÓPTICAS	63
4.6	PROPRIEDADES MECÂNICAS.....	65
4.7	CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DOS FILMES	66
4.8	PROPRIEDADES TÉRMICAS	68
4.9	INTERAÇÃO E COMPATIBILIDADE ENTRE OS COMPONENTES (FTIR).....	70
4.10	CONSIDERAÇÕES GERAIS FILMES ATIVOS.....	73
4.11	ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS FILMES ATIVOS.....	73
4.12	CARACTERIZAÇÃO FÍSICA DOS FILMES ATIVOS	79
4.13	PROPRIEDADES ÓPTICAS DOS FILMES ATIVOS.....	81
4.14	PROPRIEDADES MECÂNICA	83
4.15	MORFOLOGIA DOS FILMES ATIVOS	84
4.16	PROPRIEDADES TÉRMICAS DOS FILMES ATIVOS	86
4.17	INTERAÇÃO E COMPATIBILIDADE ENTRE OS COMPONENTES (FTIR).....	88
5	considerações finais.....	90
6	recomendações para trabalhos futuros	91
	REFERÊNCIAS	92

1 INTRODUÇÃO

A demanda por embalagens plásticas abrange grandes setores industriais, tais como o automotivo, o de alimentos e bebidas, o de eletrônicos, de higiene, perfumaria, entre outros requerendo uma grande variedade de características específicas para as mesmas. Para a produção dessas embalagens, atualmente, 90% da matéria prima utilizada é originada de fontes não renováveis (petróleo), as quais, apesar de darem origem a embalagens resistentes ao ataque microbiológico, não representam uma alternativa ecologicamente favorável, tais embalagens devido à força entre suas ligações e ao fato de não servirem de fonte de energia à grande maioria dos organismos biológicos, requerem demasiado tempo e/ou catalizadores para serem completamente degradados. E assim, se acumulam no meio ambiente.

Segundo dados da Associação Brasileira da Indústria de Plástico (ABIPLAST, 2016), a indústria alimentícia é responsável pelo consumo de 40% de todo o plástico produzido no mundo. Este número expressivo faz com que o setor seja responsável pela geração de um grande volume de resíduos, os quais muitas vezes não passam por processos de reciclagem. Além disso, as indústrias de alimentos em geral produzem um volume de resíduos orgânicos considerado excessivo, que deve ser conduzido e tratado de forma adequada antes de receber destino final, seja este o descarte ou seu reaproveitamento como um subproduto. Desta forma, os métodos de reaproveitamento de resíduos orgânicos têm sido alvo de diversos estudos. Um caso específico é o aproveitamento da bainha externa, parte comestível do palmito de pupunha, a qual já vem sendo estudada para algumas aplicações, como farinha, silagem e pastagem. O fato do Brasil ser um dos maiores produtores e consumidores de palmito de pupunha do mundo, leva a geração de uma quantidade de resíduo expressiva. Assim, torna-se de suma importância diversificar as formas de seu aproveitamento, inclusive gerando produtos de maior valor agregado, como a nanocelulose.

Á nanocelulose, geralmente obtida a partir da celulose proveniente da fibra da madeira, vem sendo extraída também de uma variedade de biomassas. (CHAKER et al., 2014; DEEPA et al., 2015). Por apresentar propriedades promissoras tais como transparência óptica, baixa expansão térmica e biodegradabilidade, a nanocelulose tem sido aplicada em diversos materiais, como por exemplo, seu emprego em matrizes poliméricas biodegradáveis para atuar como reforço estrutural. (OUN; RHIM, 2016; FORTUNATI et al., 2016). Quando incorporadas em matrizes poliméricas a celulose em escala nanométrica apresenta a capacidade de melhorar as propriedades térmicas, mecânicas, de barreira ao vapor água, dielétricas e ópticas, além de serem totalmente biodegradáveis. (MACHADO et al., 2012)

Dentre as matrizes poliméricas, existem os filmes biodegradáveis que são constituídos de materiais geralmente obtidos de fontes biológicas, como polissacarídeos, proteínas, lipídeos e derivados. Os biopolímeros, obtidos de algumas das fontes mencionadas, devem ser dispersos ou solubilizados em um solvente (água, etanol, ou ácidos orgânicos) com adição de um plastificante ou agente de liga, obtendo-se uma solução ou uma dispersão formadora de filmes. Essa solução deve passar por operação de secagem para que se obtenham os filmes. (GONTARD; GUILBERT; CUQ, 1992).

A disponibilidade e o baixo custo dos amidos os tornam um dos biopolímeros mais utilizados na composição de materiais biodegradáveis, podendo ser utilizados naturalmente, ou modificados. (HENRIQUE; CEREDA; SARMENTO, 2008). Os filmes produzidos à base de amido apresentam efetiva barreira a gases (CO_2 e O_2), porém, são conhecidos pela alta permeabilidade ao vapor d'água devido a seu caráter hidrofílico, característica que pode limitar sua aplicação em embalagens (CARVALHO; GROSSO, 2006). Com o objetivo de evitar essas características indesejáveis e possibilitar a utilização de filmes produzidos a partir de amido e outras fontes, estudos com incorporação de nanopartículas obtidas de celulose de fibras naturais têm sido realizados.

As embalagens têm como função proteger os alimentos de condições adversas de armazenamento e transporte, da exposição à luz e do ataque microbiológico, além de serem um atrativo para decisão de compra do consumidor. Nesse sentido de proteção, as embalagens ativas são alvo de pesquisas. A embalagem adicionada de antimicrobiano, por exemplo, representa um método de conservação na qual o produto embalado pode ser formulado sem nenhum tipo de conservante ou tê-los em menores quantidades. Dentre os antimicrobianos disponíveis, os óleos essenciais merecem destaque por serem produtos naturais e podem inclusive conferir características sensoriais positivas ao alimento. Alguns pesquisadores têm estudado a incorporação do óleo essencial de cravo em matrizes filmogênicas com o objetivo de obter filmes com propriedades antimicrobianas. Além do óleo, o sorbato de potássio é também um potencial para utilização como antimicrobiano, por apresentar poder de inibição em uma grande gama de microrganismo e por ser um aditivo químico permitido para uso direto em alimentos.

Considerando o contexto exposto, este trabalho objetiva desenvolver embalagens biodegradáveis de fécula de mandioca reforçadas com nanocelulose extraída de resíduo de palmito de pupunha, a fim de obter um material adequado ao acondicionamento de alimentos e que reduza o impacto causado pelo descarte das embalagens convencionais. O estudo também visa a redução do volume de resíduo dispensado no meio ambiente, durante a produção do

palmito de pupunha, através da sua aplicação em embalagens produzidas a partir de biopolímeros.

Este trabalho foi dividido em duas etapas: a primeira consistiu no desenvolvimento e caracterização de filmes de amido de mandioca incorporados de nanofibrila de celulose (NFC). A formulação que obteve os menores valor de PVA e a maior propriedade mecânica foi utilizada para a segunda etapa. A segunda visou verificar o efeito da incorporação de óleo essencial de cravo e sorbato de potássio como agentes antimicrobianos e a influência dos mesmo nas demais propriedades dos filmes. Desta forma, os objetivos: geral e específicos estão apresentados na sequência.

1.1 OBJETIVOS

Objetivo Geral

Desenvolver filmes à base de amido de mandioca (*Manihot esculenta*), incorporados com nanocelulose extraída de resíduo de palmito de pupunha, caracterizando-os.

Objetivos Específicos

- a) Desenvolver um filme biodegradável à base de amido de mandioca (matriz principal), utilizando glicerol como plastificante e solução de nanocelulose de resíduo de pupunha como reforço ao filme.
- b) Caracterizar os filmes quanto à espessura, permeabilidade ao vapor d'água, resistência mecânica e elasticidade, solubilidade, cor, transparência, umidade e atividade de água.
- c) Avaliar a interação e compatibilidade entre os componentes, e a estrutura morfológica dos filmes por meios das análises de FTIR e MEV.
- d) Desenvolver, a partir dos melhores resultados de permeabilidade ao vapor de água (PVA) e propriedades mecânicas, filmes incorporados de diferentes concentrações de óleo essencial de cravo.
- e) Caracterizá-los quanto às propriedades mecânicas, ópticas, de composição e de interação.
- f) Avaliar seu efeito antimicrobiano através da medida do halo de inibição para os seguintes microrganismos: *Salmonella choleraesuis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* e *Escherichia coli*.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 EMBALAGENS PLÁSTICAS

As embalagens alimentícias são utilizadas como uma forma de proteção mecânica e de conservação dos alimentos, proporcionando o aumento da vida de prateleira, reduzindo a deterioração microbiológica e garantindo a qualidade e segurança dos produtos. (DE SOUZA; DITCHFIELD; TADINI, 2010). Dentre os diferentes tipos de embalagens utilizadas para alimentos, as embalagens plásticas são as mais utilizadas, as quais são compostas por polímeros extraídos de recursos não renováveis - geralmente o petróleo -, os quais podem representar um grave problema ambiental devido a seu acúmulo e baixa degradabilidade. (ATARÉS; CHIRALT, 2016). Os polímeros são substâncias compostas de repetidas macromoléculas e podem se apresentar na forma de sólidos, não metálicos e de alto peso molecular. Podendo suas características diferirem de acordo com sua composição. (CALLISTER; WILEY; SONS, 1991).

Algumas características positivas como durabilidade, atoxidade, baixo custo, facilidade, capacidade de moldagem e reciclagem, e a versatilidade de aplicação, tornam os polímeros sintéticos a matéria-prima de maior utilização para a produção de embalagens plásticas. Devido a isso aumenta o consumo e a produção deste tipo de embalagem. (CASARIN et al., 2013). Uma ideia deste aumento pode ser verificada avaliando os dados da produção mundial de resinas termoplástica. Em 2015 a produção foi de aproximadamente 260 milhões de toneladas, sendo a China e a América Latina responsáveis por 26% e 5% de toda a produção, respectivamente. De todo o plástico produzido, a indústria de alimentos consome mundialmente 40% do total. No Brasil, independente da origem, o consumo de material plástico chega a aproximadamente 35 kg por habitante, enquanto nos EUA e no Japão este valor é de aproximadamente 100 kg. (ABIPLAST, 2015).

A alta produção e alto consumo de plásticos gera, consequentemente, um volume de resíduos excessivo. Embora existam programas de reciclagem e o plástico seja composto de polímeros que são 100% recicláveis, ele é o resíduo que mais se encontra nos aterros sanitários, representando um volume de 13,5%. (IPEA, 2012; ABIPLAST, 2015).

Uma forma de reduzir esses volumes é através da produção de embalagens que sejam biodegradáveis. Estas embalagens degradam-se rapidamente quando estão em contato com microrganismos no meio ambiente e possuem a vantagem de não poluírem o meio ambiente. (ARVANITOYANNIS; BILIADERIS, 1999).

2.2 EMBALAGENS BIODEGRADÁVEIS

As embalagens biodegradáveis surgem como uma alternativa de reduzir os resíduos gerados por embalagens de material sintético. Estes materiais vêm ganhando espaço como uma forma de adaptação às novas exigências dos consumidores que buscam com mais frequência e intensidade, produtos de qualidade e com níveis reduzidos de aditivos sintéticos. (NIELSEN; RIOS, 2000).

Um exemplo de embalagem biodegradável são os filmes biodegradáveis. Eles podem ser produzidos a partir de diversos polissacarídeos, proteínas e lipídeos ou uma mistura entre eles, o que pode originar em um produto com características melhoradas. (FABRA et al., 2009). Estes materiais podem ser utilizados como embalagem de diversos alimentos desde que apresentem características de barreira e propriedades mecânicas favoráveis a isto. Em determinadas circunstâncias, os filmes biodegradáveis podem inclusive possuir a capacidade de transportar enzimas, antimicrobianos e ingredientes ativos, o que pode torná-los materiais com propriedades atraentes e funcionais do ponto de vista tecnológico. As propriedades do filme obtido dependerão das características dos constituintes e da interação entre os polímeros e demais compostos. (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

A fabricação de filmes biodegradáveis a partir dos biopolímeros pode seguir dois métodos: úmido e seco. A produção via úmida acontece a partir da solubilização da macromolécula no solvente, formando então a solução formadora de filmes, que deve ser espalhada posteriormente em algum suporte sendo submetido a secagem. (CUQ; GONTARD; GUILBERT, 1995; DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010). Estes filmes, independente da matriz polimérica utilizada, precisam ser adicionados de plastificantes.

Os plastificantes, de acordo com a *International Union of Pure and Applied Chemistry* (IUPAC) são capazes de melhorar características mecânicas e processabilidade de plásticos ou elastômeros. Isto ocorre devido aos plastificantes possuírem a capacidade de reduzir as forças intramoleculares entre a cadeia polimérica e devido a isso aumenta a flexibilidade, extensão e reduz a resistência à tração. (SOTHORNVIT; KROCHTA, 2005; BUFFO e HAN, 2005; DANGARAN; TOMASULA; PHOEBE, 2009).

Neste sentido várias pesquisas vem sendo realizadas focando no desenvolvimento e caracterização de filmes a partir de fontes naturais. Conforme pode ser verificado no trabalho de Gontard et al., (1993), foi avaliado o efeito da água e do glicerol como efeito plastificantes em filmes de glúten de farinha de trigo e sua influência nas propriedades mecânicas e barreira ao vapor da água. O Glicerol, embora tenha melhorado a extensibilidade reduziu a resistência à

perfuração, elasticidade e as propriedades de barreira ao vapor da água. Palmu (2003), obteve um filme de glúten de farinha de trigo com ácido esteárico e palmítico, e cera de abelha com valores de permeabilidade de água melhorados quando comparados com os filmes apenas de glúten, glicerol e etanol. Porém, não obteve resultado positivo para a resistência a tração e alongação para os quais foram encontrados valores baixos. Mali et al. (2004), a partir do amido de inhame desenvolveu um filme com propriedades de barreira ao vapor da água e ao oxigênio, aprimoradas quando comparadas com outros filmes biodegradáveis como filme de amilose e a melhoria foi atribuída ao aumento da concentração de glicerol.

Conforme mencionado, os filmes podem ser produzidos a partir de diversas fontes orgânicas. Dentre elas, o amido é um polissacarídeo que tem sido considerado uma matéria prima bastante promissora por ser abundante e biodegradável, além de ser extraído a partir de fonte renovável e de baixo custo de produção. (AVEROUS et al., 1999; FAMÁ et al., 2006).

2.3 AMIDO

O amido é a reserva alimentar que predomina nas plantas, sendo capaz de fornecer de 70 a 80% das calorias consumidas pelos humanos em todo o mundo. Sua característica química e física e aspectos nutricionais os destacam dos demais carboidratos, podem ser obtidos a partir de sementes de cereais (milho, trigo e arroz), raízes (mandioca) e tubérculos. Ocorre na natureza em forma de grânulos, sendo insolúveis e de baixa hidratação em água fria.

Estruturalmente, os grânulos de amidos são formados por dois tipos de polímeros de glicose: sendo um polissacarídeo linear, denominado de amilose, e um ramificado chamado de amilopectina. (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010). A amilose é uma cadeia linear formada por moléculas de D-glicose unidas por ligações glicosídicas α -1,4. A quantidade de moléculas de glicose varia de centenas a milhares, dependendo da fonte biológica de amido. A amilose representa de 17 a 30% da massa total dos amidos. Ela é encontrada de forma cristalizada nos amidos onde as moléculas estão unidas por ligações de hidrogênio. Quando em solução, as moléculas estão dispostas em forma de hélices na qual cada volta é constituída por seis unidades de glicose. Podem formar compostos de inclusão por meio da inserção de moléculas de ácidos graxos, hidrocarbonetos e iodo. (PEREDA et al., 2005; DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010). O interior da hélice é composto de átomos de hidrogênio, em predominância, sendo hidrofóbico, e na parte externa se encontram os grupos hidroxilas. (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010). Em solução, devido a sua linearidade, a

amilose apresenta-se paralelamente aproximando e realizando ligações de hidrogênio com os grupos OH dos polímeros adjacentes. (WURZBURG, 1986).

Por outro lado, a amilopectina é uma molécula extensa, com inúmeras ramificações que constituem entre 4 e 5% do total de ligações existentes. As ramificações são agrupadas exibindo-se em forma de dupla hélice. Devido à sua alta massa molecular (10^7 até 5×10^8), ela pode ser considerada uma das maiores moléculas encontradas na natureza e está presente em todos os amidos. Constitui aproximadamente 75% da composição total do amido. (PEREDA et al., 2005; DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

A amilopectina é a responsável, em grande parte, pelo processo de inchamento do grânulo de amido durante a gelificação, uma vez que durante o cozimento ocorre a absorção de água. Sua estrutura ramificada faz com que a amilopectina não apresente tendência em recristalizar, proporcionando a formação de soluções que não retrogradam. (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010). Sua estrutura é organizada na forma de *clusters*, onde as regiões empacotadas ordenadas se alternam entre as regiões menos ordenadas, dispostas de formas paralelas. No interior do grânulo de amido estão presentes lamelas cristalinas e amorfas em forma de anéis. (OATES, 1997).

Os grânulos, quando aquecidos em solução aquosa, têm a capacidade de produzir um gel, com consequente aumento de viscosidade. O aquecimento de uma solução agitada de 5% de amido nativo a 80 °C, por exemplo, fornece uma solução altamente viscosa. (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

E quando aquecidos à temperatura suficiente, os grânulos, passam por um processo conhecido como gelatinização. O aumento da temperatura de uma solução de amido ocasiona forte vibração das moléculas, acarretando o rompimento das ligações intermoleculares com consequente formação de ligações de hidrogênio com a água. O número e o tamanho das regiões cristalinas são reduzidos devido ao inchamento dos grânulos de amido, aumentando a viscosidade da solução devido à aderência entre os grânulos. No entanto, o excesso de aquecimento com agitação pode provocar o rompimento dos grânulos, uma vez que eles exercem forte pressão uns contra os outros ocasionando a redução da viscosidade. (PEREDA et al., 2005).

A capacidade de ser gelatinizado, o amido tem sido utilizado há décadas na produção de filmes devido às propriedades físicas, químicas e funcionais da estrutura formada após a interação molecular que ocorre no processo de gelificação. Um exemplo é o trabalho desenvolvido por Griffin (1977) que, a fim de produzir um filme biodegradável e melhorar algumas características do filme de amido, desenvolveu um filme sintético termoplástico ao

qual foi adicionada uma proporção de 5 a 20% de amido, obtendo-se materiais biofragmentáveis, porém não totalmente biodegradáveis. Dentre as diferentes fontes de amidos, o amido de mandioca apresenta um grande potencial em aplicação para produção de filmes biodegradáveis, uma vez que apresenta baixo custo de produção, é amplamente produzido pelo mundo e de alto rendimento. (AVEROUS et al., 1999; FAMÁ et al., 2006).

Amido de mandioca

A mandioca (*Manihot esculenta*), originária da América do Sul, é parte da alimentação de milhões de pessoas principalmente nos países em desenvolvimento. É amplamente produzida pelo mundo sendo o Brasil o quarto maior produtor, responsável por 10% da produção mundial (ABAM, 2016). Segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) a produção de mandioca em 2016 foi de aproximadamente 23,7 milhões de toneladas estando os estados do Pará e Paraná entre os maiores produtores do país, liderando o primeiro (com 25,5% de toda produção) e segundo (com 15,8% de toda produção) lugar, respectivamente. A mandioca é um produto de ampla utilização, sendo empregado como alimento in natura, ou como matéria prima para extração de amido e farinhas (FRANCO et al., 2001). Em outros casos, seu emprego tem sido além de produtos alimentares, conforme estudo de Lu et al., (2010), onde a mandioca foi utilizada como matéria-prima para a produção de biodiesel.

O maior constituinte da mandioca é o amido e este pode corresponder até 80% do seu peso seco (OLOMO; AJIBOLA, 2006). O amido de mandioca possui características que o coloca em posição de destaque quando comparado aos demais amidos. Entre elas podemos evidenciar a alta capacidade de retenção de água, baixa temperatura de gelatinização (65 °C) e ausência de odor característico de cereal. (SINGH; KAUR; MCCARTHY, 2007). Além disso, é um produto de fácil extração e possui coloração branca, excluindo necessidade de tratamentos de branqueamento. A coloração branca é devido à baixa concentração de lipídeos, proteínas, cinzas e fósforo. (MOORTHY, 2004). Espera-se que a qualidade do amido extraído a partir da mandioca influencie na qualidade dos produtos obtidos. (ZHU, 2015).

Diversos estudos evidenciam a capacidade do amido de mandioca em formar filmes biodegradáveis (ALVES et al., 2007; BELIBI et al., 2014; SILVA, DA et al., 2015; MEDINA JARAMILLO et al., 2016; NGUYEN et al., 2016; ZDANOWICZ; JOHANSSON, 2016). Os filmes produzidos a partir de amido apresentam características favoráveis tais como transparência, fácil processamento, boa barreira contra oxigênio e dióxido de carbono,

biodegradabilidade e compatibilidade com grande parte do material utilizado facilitando o processo de homogeneização durante a elaboração. Porém, apresentam algumas desvantagens como alta permeabilidade ao vapor da água, solubilidade em água, baixa resistência mecânica e custo de produção elevado quando comparados com polímeros sintéticos. (DE SOUZA; DITCHFIELD; TADINI, 2010).

Uma alternativa que vem sendo estudada com o objetivo de melhorar as propriedades mecânicas, térmicas e de barreira dos filmes produzidos a partir de amido, tem sido a incorporação de nanopartículas extraídas de materiais biológicos (LIU et al., 2016; CHAICHI et al., 2017) e materiais não biológicos (SOUZA et al., 2012).

Resultados significativos podem ser observados no trabalho de Da Silva et al. (2015), no qual nanocelulose de diferentes fontes foram extraídas e incorporadas em matrizes poliméricas de amido, resultando em filmes com permeabilidade reduzida e propriedades mecânicas e físicas melhoradas, independente da fonte biológica de nanocelulose. A incorporação de nanopartículas de prata também melhorou as propriedades supracitadas, conforme verificado por Souza et al., (2012). O mesmo foi obtido no trabalho de Teodoro et al., (2015) com a incorporação de nanopartículas de amido acetilado.

2.4 NANOTECNOLOGIA

O setor alimentício movimenta no mundo valores consideráveis e devido a isso, está sempre buscando melhorias em processo, produto, segurança alimentar, qualidade, a fim de se manter e conquistar novos mercados. A inovação é um processo vital para enfrentar a concorrência e garantir a participação no mercado. A nanotecnologia surgiu e vem auxiliar nesse propósito uma vez que é um potencial auxílio na produção de alimentos funcionais com qualidade melhorada.(CUSHEN et al., 2012; MACHADO et al., 2012).

Em 1959 o conceito de nanotecnologia foi introduzido pela primeira vez por Richard Feynman. A nanotecnologia como produção de materiais em escala nanométrica foi criada em 1974 pelo professor Norio Taniguchi da Universidade de Ciências de Tokio. E com a criação do Microscópio Eletrônico de Varredura por Tunelamento, na década de 80, a ciência de estudos da nanotecnologia registrou avanços e resultados expressivos. (ZHANG; WEBSTER, 2009).

A nanotecnologia é direcionada para a fabricação, caracterização, manipulação e aplicação de estruturas biológicas ou não biológicas na escala nanométrica. (SAHOO; PARVEEN; PANDA, 2007). O prefixo “nano” do nome é referente à medida de nanômetro que

corresponde a um bilionésimo do metro. Estas estruturas nessa escala de tamanho apresentam propriedades e características únicas às quais não apresentam na escala macro. (CHAU; WU; YEN, 2007). As características diferenciadas das partículas em dimensões nanométricas podem ser explicadas pelas forças que atuam sobre ela. Em seu tamanho original as principais forças que agem sobre o material é a força de atrito e a força gravitacional, porém essas forças são desprezíveis quando o material está em escala nano, onde a principal força passa a ser a força eletrostática e os efeitos de estruturação da partícula: tamanho e superfície de contato. (DURÁN; MATTOSO; MORAIS, 2006).

Por apresentarem tamanhos e superfície de contato distintas, as nanopartículas são adicionadas às matrizes poliméricas, produzindo os nanocompositos, materiais que devem apresentar no mínimo um de seus componentes com dimensões nanométricas. Devido a essa maior exposição da área superficial, as nanopartículas apresentam uma maior interação com a matriz, onde estão inseridos, o que não ocorre com a mesma intensidade nos materiais compostos em tamanho normal. (ASSIS et al., 2012).

Pesquisas têm demonstrado que as nanopartículas tem a capacidade de melhorar as propriedades de vários materiais. (DREXLER, 2004). Embalagens incorporadas de nanopartículas apresentam propriedades físico-químicas, mecânicas, de hidrofiliidade, e biodegradabilidade melhoradas. (ESPITIA et al., 2012). Devido à celulose ser o polissacarídeo mais abundante do mundo, ela tem sido bastante estudada para obtenção de materiais em nano escala. Estes materiais, mesmo sendo obtidos a partir do mesmo polímero (celulose), podem diferir conforme sua fonte de obtenção e o método de extração influenciando as características do material obtido e sua aplicação final. (CHEN et al., 2015; GARCÍA et al., 2016).

2.5 CELULOSE

A celulose é um polissacarídeo, de cadeia longa e rígida, constituída por moléculas de glicose conectadas por ligações $\beta 1,4$. Ela está contida na parede celular dos vegetais como um dos seus principais constituintes estruturais e apresenta-se comumente associada a outros dois polímeros denominados de lignina e hemicelulose. Devido a sua linearidade, as moléculas se agregam de forma paralela originando estruturas cristalinas de ocorrência na parte lenhosa das plantas. (PEREDA et al., 2005). Devido a isso são insolúveis em água, uma vez que seria necessário que as ligações de hidrogênio existente entre as moléculas fossem rescindidas todas de uma vez. (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

A celulose apresenta zonas cristalinas e amorfas que surgem através das ligações entre os grupos hidroxilas das moléculas de glicose e a água. A zona cristalina é a encarregada pela firmeza das fibras de celulose enquanto a zona amorfa é sensível a tratamentos químicos e enzimáticos e possuem a capacidade de capturar a água, aumentando seu volume. (PEREDA et al., 2005). As zonas cristalinas e amorfas podem ser encontradas nas fibras de celulose nativa e as proporções variam de acordo com a espécie, a parte da planta utilizada e com as condições em que foram cultivadas. (BRAS et al., 2011).

Por ser de origem de fontes renováveis a celulose pode ser utilizada para substituir total ou parcialmente os polímeros sintéticos. Apresenta algumas características como biodegradabilidade, atoxidade, além de ser um polímero de baixo custo de produção e renovável, o que a torna um polímero de grande interesse de produção (BRAS et al., 2011) (DUFRESNE, 2006; HANSSON et al., 2009; KAYA et al., 2016; LEITE; ZANON; MENEGALLI, 2016). Além disso, ela pode ser extraída de diversas fontes, como do bagaço da mandioca (TEIXEIRA et al., 2009; LEITE; ZANON; MENEGALLI, 2016), do resíduo fibroso da Achira (ANDRADE-MAHECHA; PELISSARI; TAPIA-BLÁCIDO; MENEGALLI, 2015), da casca de banana (TIBOLLA; MARIA; CECILIA, 2014), e da casca de arroz (JOHAR; AHMAD; DUFRESNE, 2012). Por essas razões a celulose tem sido utilizada para a obtenção de nanopartículas com aplicações adaptadas a necessidades específicas. Os materiais nanométricos obtidos a partir da celulose podem ser divididos em dois grupos: Nanocristais de Celulose (NCC) e Nanofibrilas de celulose (NFC), sendo obtidos por hidrólise ácida e desintegração mecânica, respectivamente. (GARCÍA et al., 2016).

Nanofibrilas de Celulose (NFC)

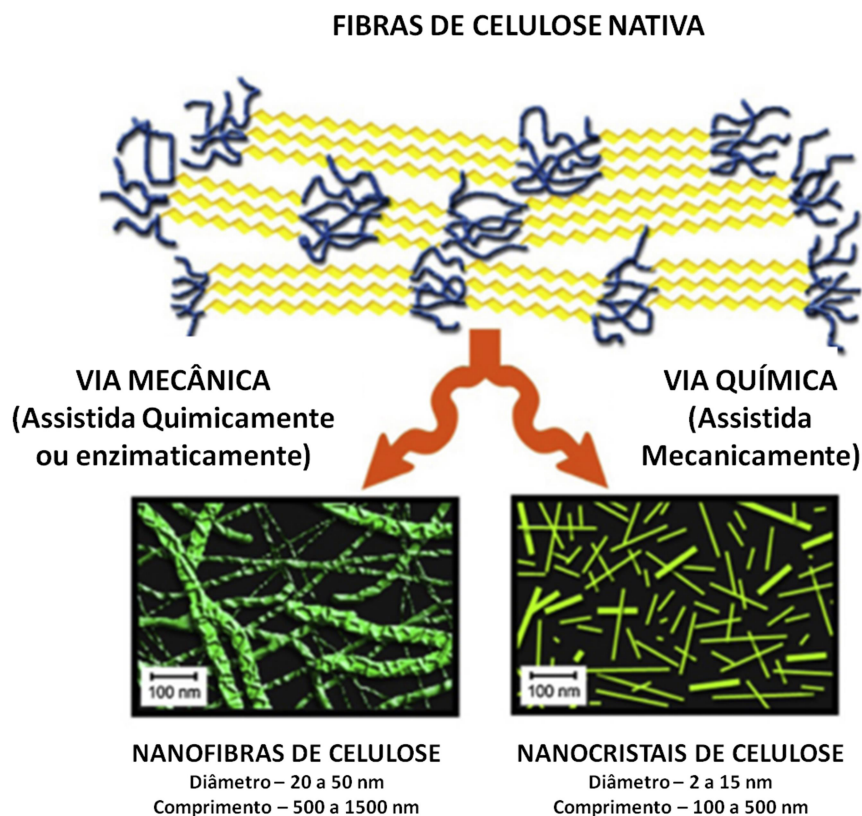
As nanofibrilas de celulose (NFC) foram descobertas em 1983 por Tubak e colaboradores, os quais a descreveram como uma forma nova de celulose de baixo custo. As nanofibras de celulose são longas e flexíveis, compostas por microfibrilas de celulose individualizadas que se alternam entre zonas amorfas e cristalinas e possuem em sua superfície uma grande quantidade de grupos hidroxila. (GARCÍA et al., 2016).

A obtenção de NFC, independente da fonte, envolve em seu processo um tratamento preliminar a fim de se eliminar os demais constituintes que estão associados à celulose (lignina, hemicelulose e pectina). Quando a fonte celulósica é obtida da polpa branqueada, o processo de obtenção do material nanocelulósico é mais fácil e rápido. São basicamente dois os tratamentos prévios realizados antes da obtenção do material em escala nano. Um deles denominado como

deslignificação, que tem como objetivo remover a hemicelulose, lignina e pectina. Este tratamento é realizado por meio de processo químico. O outro tratamento é o branqueamento, no qual é feita a retirada mais efetiva da lignina e é obtido um produto mais homogêneo. Esta etapa também reduz o diâmetro das fibras de celulose e auxilia na melhoria de suas propriedades de cristalinidade, área superficial, módulo e razão de espectro. (ROSA et al., 2010; GARCÍA et al., 2016). Para o processo de deslignificação podem ser usados diferentes produtos químicos como NaOH (Abraham et al., 2011), KOH (Urruzola et al., 2014), solventes orgânicos (Jiang e Hsieh, 2013), ácidos minerais (Hsieh, 2013), NaClO₂ (Rosa et al., 2010), aplicando se diferentes combinações entre tempo e temperatura.

As dimensões das estruturas após os tratamentos mecânico e químico assim como seu formato e organização podem ser verificados na Figura 1. A partir da figura é possível inferir que o processo de obtenção das nanopartículas quando obtidas através de um processo mecânico (NFC) as vias intermediárias geralmente são químicas ou enzimáticas e quando a obtenção ocorre através de processo químico as vias associadas a esse processo são mecânicas (ex: agitação mecânica durante a hidrólise ácida).

FIGURA 1 - ESTRUTURAS DOS DIFERENTES TIPOS DE NANOCELULOSE.



FONTE: Adaptado de GARCÍA et al.,(2016).


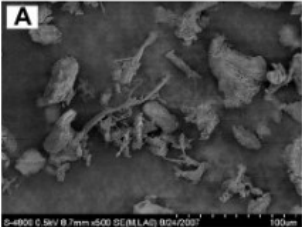

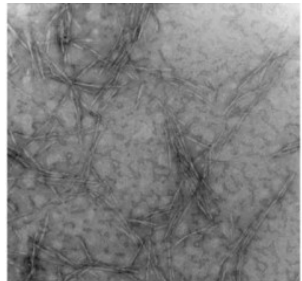

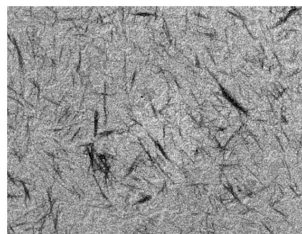
As NFC e os NCC podem ser extraídas a partir de matérias-primas diversificadas, desde que contenham celulose. No trabalho de Machado et al. (2012), por exemplo, nanocristais de celulose nas dimensões de 6 nm (largura) e 98 a 430 nm (comprimento) foram extraídos de fibra de coco e aplicados a um filme biodegradável de amido de mandioca, atuando como reforço polimérico. A presença dos nanocristais na matriz polimérica de amido de mandioca e glicerol reduziu a permeabilidade a gases e ao vapor de água.


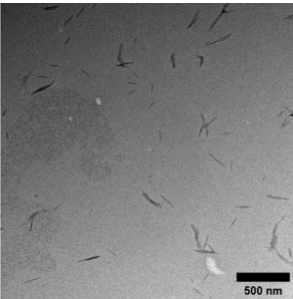

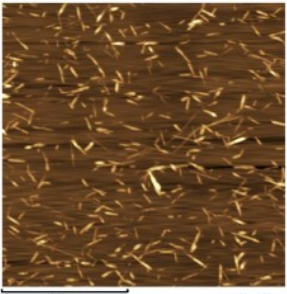

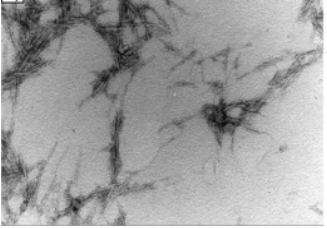
Em um outro exemplo, Da Silva et al., (2015) extraíram e aplicaram nanocelulose de diferentes fontes celulósicas (fibra de licuri, fibra de côco, palha de milho e polpa de eucalipto comercial) em matriz polimérica de amido de mandioca plastificada com glicerol. Os filmes obtidos apresentaram tração máxima e módulo de Young com valores aprimorados quando comparados com o polímero sintético, polietileno, além de valores de atividade de água e permeabilidade ao vapor da água, favoráveis.




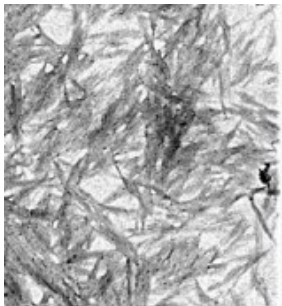


Com o apelo de aproveitamento de material de descarte, Liu et al., (2016) utilizaram um resíduo de milho, rico em lignocelulose, produzido em uma indústria de furfural para extrair a nanocelulose. A extração foi realizada utilizando quatro métodos diferentes e suas propriedades como estrutura, cristalinidade, morfologia, dimensões e estabilidade térmica, foram pesquisadas. O método de extração influenciou no tamanho e cristalinidade do nanocristal de celulose obtido, sendo que a hidrólise com ácido fórmico produziu cristais com hastes mais longas e maior cristalinidade quando comparada com a hidrólise com ácido sulfúrico. Além disso, a alta cristalinidade influenciou na estabilidade térmica do NCC obtido. Os resultados do estudo mostram a potencial fonte para produção de nanocelulose partindo de um resíduo industrial.




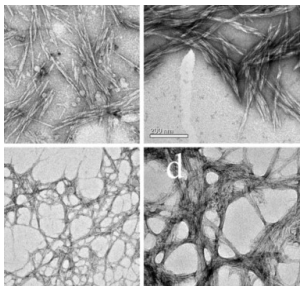

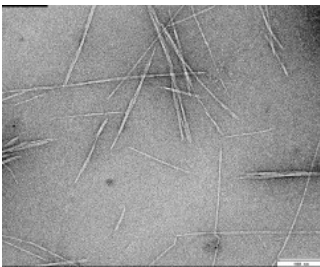
Na tabela 1 está inserida um levantamento referente à extração de material nanocelulósico a partir de resíduos agroindustriais, ilustrando também o formato e a disposição das fibras obtidas em diferentes estudos. Num primeiro momento, ao avaliar as imagens obtidas pelos autores, é possível verificar que a disposição e formato das partículas dependem da fonte biológica da qual a celulose foi extraída. A pesquisa abrange o período entre os anos de 2009 e 2016, sendo que neste período não foram encontrados trabalhos referentes à aplicação de nanocelulose extraída da bainha externa da Pupunha.


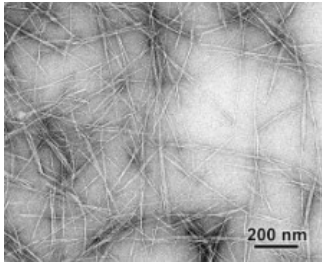

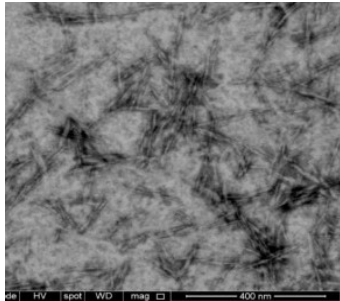

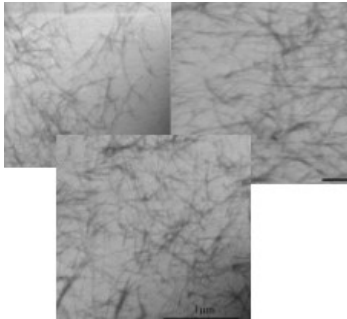
TABELA 1 - LEVANTAMENTO DOS DIVERSOS RESÍDUOS UTILIZADOS PARA EXTRAÇÃO DE NANOCELOCELULOSE

RESÍDUO	IMAGEM DO MATERIAL EM ESCALA NANO	FORMA DE NANOCELOCELULOSE	MÉTODO DE EXTRAÇÃO	TÍTULO DO TRABALHO	REFERÊNCIA
<p>CASCA DE ERVILHA</p>  <p>Fonte: Autor desconhecido</p>	 <p>FONTE: CHEN et al., 2009.</p>	NCC	Hidrólise ácida	Bionanocompósitos à base de amido de ervilha e nanofibras de celulose hidrolisados a partir de fibra de casca de ervilha: Efeito do tempo de hidrólise.	(CHEN et al., 2009).
<p>CASCA DE COCO</p>  <p>Fonte: Autor desconhecido</p>	 <p>FONTE: ROSA et al, 2010.</p>	NCC	Hidrólise ácida	Nanowhiskers de celulose de fibras de casca de coco: efeitos das condições de preparação sobre o seu comportamento térmico e morfológico.	(ROSA et al., 2010).
<p>CASCA DE ARROZ</p>  <p>Fonte: Autor desconhecido</p>	 <p>FONTE: JOHAR; AHMAD; DUFRESNE, 2012.</p>	NCC	Hidrólise ácida	Extração, preparação e caracterização de fibras de celulose e nanocristais de celulose de casca de arroz.	(JOHAR; AHMAD; DUFRESNE, 2012).

<p>CASCA DE BATATA</p>  <p>Fonte: Autor desconhecido</p>	 <p>FONTE: CHEN et al., 2012.</p>	NCC	Hidrólise ácida	Biocompósitos reforçados com nanocristais de celulose derivado da casca da batata.	(CHEN et al., 2012).
<p>SABUGO DE MILHO</p>  <p>Fonte: Autor desconhecido</p>	 <p>FONTE: ALVES et al., 2013</p>	NCC	Hidrólise ácida	Extração e caracterização de nanocristais de celulose de espiga milho para aplicação como agente de reforço em nanocompósitos.	(ALVES et al., 2013).
<p>CASCA DE SOJA</p>  <p>Fonte: Autor desconhecido</p>	 <p>FONTE: NETO et al., 2013</p>	NCC	Hidrólise ácida	Extração e caracterização de nanocristais de celulose de agroindústrias Resíduo - casca de soja.	(NETO et al., 2013)

<p>FOLHA DE ABACAXI</p>  <p>Fonte: Autor desconhecido</p>	 <p>FONTE: SANTOS et al., 2013</p>	NCC	Hidrólise Ácida	Nanocristais de celulose de folha de abacaxi, uma nova abordagem para a reutilização deste agroresíduo.	(SANTOS et al., 2013).
<p>BAGAÇO DE CANA</p>  <p>Fonte: Autor desconhecido</p>	 <p>FONTE: KUMAR et al., 2014</p>	NCC	Hidrólise Ácida	Caracterização de Nanocristais Celulósicos Produzidos por Hidrólise Ácida de Bagaço de Cana-de-Açúcar como Agro-Resíduos.	(KUMAR et al., 2014).
<p>RESIDUO DE PIMENTÃO</p>  <p>Fonte: Autor desconhecido</p>	 <p>FONTE: NAGALAKSHMAIH et al., 2015</p>	NCC	Hidrólise Ácida	Investigação estrutural de nanocristais de celulose extraídos de resíduos de pimentão e seu reforço em látex de borracha cariflex-IR.	(NAGALAKSHMAIAH et al., 2015)

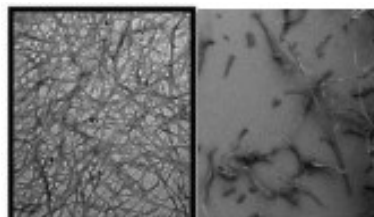
<p>PELE DE TOMATE</p>  <p>Fonte: Autor desconhecido</p>	 <p>FONTE: JIAN; HSIEH, 2015</p>	NCC	Hidrólise Ácida	Nanocristais de celulose isolados de pele de tomate e agregado de nanofibras.	(JIANG; HSIEH, 2015).
<p>SABUGO DE MILHO</p>  <p>Fonte: Autor desconhecido</p>	 <p>FONTE: LIU et al., 2016</p>	NCC /NFC	Diferentes métodos de extração: ácido, oxidativo e mecânico.	Propriedades de nanocelulose isolada de sabugo de milho residual usando ácido sulfúrico, ácido fórmico, métodos oxidativos e mecânicos.	(LIU et al., 2016)
<p>PALHA DE ÁLHO</p>  <p>Fonte: Autor desconhecido</p>	 <p>FONTE: KALLEL et al., 2016</p>	NCC	Hidrólise Ácida	Isolamento e caracterização estrutural de nanocristais celulósicos extraídos de resíduos de palha de alho	(KALLEL et al., 2016)

<p>CASCA DE SOJA</p>  <p>Fonte: Autor desconhecido</p>	 <p>FONTE: FLAUZINO NETO et al., 2016</p>	NCC	Hidrólise Ácida	Propriedades mecânicas de nanocompósitos de borracha natural reforçados com nanocristais de celulose de alta proporção, isolados de cascas de soja. (FLAUZINO NETO et al., 2016)
<p>BAGAÇO DE CANA</p>  <p>Fonte: Autor desconhecido</p>	 <p>FONTE: OLIVEIRA et al., 2016</p>	NCC	Hidrólise Ácida	Produção de nanocristais de celulose de fibras de bagaço de cana-de-açúcar (OLIVEIRA et al., 2016)
<p>PALHA DE ARROZ, CEVADA E TRIGO</p>  <p>Fonte: Autor desconhecido</p>	 <p>FONTE: OUN; RHIM, 2016</p>	NCC	Hidrólise Ácida	Isolamento de nanocristais de celulose de palhas de grãos e sua utilização na preparação de filmes nanocompósitos à base de carboximetilcelulose (OUN; RHIM, 2016)

TALO DE GIRASSOL



Fonte: Autor desconhecido



FONTE: FORTUNATI et al, 2016

NCC E NFC

Hidrólise
Ácida e
Explosão de
vapor

Revalorização de talos de girassol como novas fontes de nanofibrilas de celulose e nanocristais e seu efeito sobre as propriedades de nanocompósitos de glúten de trigo (FORTUNATI et al., 2016)

2.6 RESÍDUO DE PUPUNHA

Um dos grandes desafios da agroindústria é o destino adequado dos resíduos lignocelulósicos gerados, material que além de ser rico em celulose, é produzido em grandes volumes, podendo ser considerado um problema ambiental se descartado inadequadamente. Um exemplo deste caso pode ser verificado no beneficiamento de palmito de pupunha, onde a quantidade de resíduos produzida é de aproximadamente 80% da massa da planta colhida. (MAGALHÃES et al., 2013).

A pupunheira (*Bactris gasipaes* Kunth.) é uma palmeira caespitose, que pode ser cultivada em várias regiões do Brasil, sendo os frutos e o palmito as partes mais importante da planta. (YUYAMA et al., 1999). A produção deste tipo de palmito surgiu como uma forma alternativa para a produção deste alimento no Brasil, pois apresenta características desejáveis, tais como, tempo de corte precoce podendo ser com até 18 meses, corte e trato cultural facilitados, além de apresentar qualidade elevada, isto quando comparadas com outras espécies como Palmito Açaí (*Euterpe olerace*) e Palmito Juçara (*Euterpe eduli*).

Sendo o palmito a parte mais importante da planta, sua obtenção gera como resíduos parte do caule, bem como as bainhas externa (Figura 2) e mediana do vegetal. Estes subprodutos geralmente são descartados no meio ambiente ou utilizados como alimentação animal (silagem), embora existam pesquisas para utilização destes como compostagem (SILVA; MING, 2010), como matéria-prima na produção de farinhas ricas em fibras (MAGALHÃES et al., 2013; BOLANHO et al., 2015), na extração da fibra e na utilização como fibras reforçadas de poliéster. (SANTOS et al., 2008).

FIGURA 2- BAINHA EXTERNA DO PALMITO DE PUPUNHA, RESÍDUO GERADO DURANTE A PRODUÇÃO DO PALMITO.



FONTE: autor desconhecido.

A bainha externa, conjunto de folhas mais velhas, é responsável por envolver o palmito, parte comestível, que pode ser definido como um conjunto de folhas mais novas. Por representar grande parte da composição da pupunheira, a bainha externa foi caracterizada quanto ao teor de celulose, hemicelulose e lignina por (MAGALHÃES et al., 2013), sendo que o valor de celulose obtido foi superior ao da madeira *Pinus taeda* e o conteúdo de lignina inferior a este. A composição química do resíduo está representada na Tabela 2.

TABELA 2 - COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA BAINHA EXTERNA DA PUPUNHA

CONSTITUINTE	CONTEUDO (%)
Celulose	41,4%
Hemicelulose	23,3%
Lignina	22%

FONTE: Adaptado de Magalhães et al., (2013).

Por apresentar um elevado teor de celulose a bainha externa da pupunha é uma fonte promissora para extração e obtenção de nanocelulose, seja ela na forma de nanocristais ou nanofibras e sua aplicação em filmes biodegradáveis incorporados ou não de antimicrobiano.

2.7 ÓLEO ESSENCIAL DE CRAVO COMO FATOR ANTIMICROBIANO

Os agentes antimicrobianos, quando presentes nos alimentos, possuem a capacidade de atuar inibindo o crescimento de microrganismos ou eliminando os que estejam presentes,

podendo ser utilizados diretamente no alimento ou serem inseridos em sua embalagem. (DAVIDSON, 1997; FRAZIER e WESTHOFF, 1993). As embalagens ativas, incorporadas de algum ingrediente de interesse, têm como objetivo proporcionar características adicionais àquelas comuns às embalagens tradicionais, como a liberação de aditivos, propriedades indicadoras de alteração química, e funções antimicrobianas. Estas embalagens têm como características inibir microrganismos trazendo segurança ao alimento e ao consumidor final, uma vez que elas têm a capacidade de retardar ou inibir o crescimento de organismos potencialmente patógenos e deteriorantes, aumentando a vida de prateleira do produto embalado. (SOUZA et al., 2012; SOUZA et al., 2013). Vários são os mecanismos de ação dos óleos nas células dos microrganismos tais como, comprometer o material genético, ataque da membrana celular entre outros. (ATARÉS; CHIRALT, 2016).

Os óleos essenciais são um grupo de ingredientes em destaque para serem adicionados em embalagens biodegradáveis, devido a sua origem natural e as propriedades funcionais antioxidantes e antimicrobianas. Quando adicionados às embalagens, eles possuem a capacidade de agir ativamente nesta, prolongando a vida de prateleira do alimento e consequentemente agregando mais valor ao produto. No entanto, a inclusão destes óleos a embalagens (comestíveis e filmes) de alimentos pode interferir nas propriedades ópticas e de tensão do material, o que pode ocasionar alterações que não as tornam aceitáveis do ponto de vista tecnológico e ao consumidor final. (ATARÉS; CHIRALT, 2016).

Segundo a *International Standart Organization* (ISO), óleo essencial é aquele obtido através de destilação por arraste com vapor d'água, de partes da planta. O produto obtido é uma mistura complexa de substâncias líquidas e odoríferas sendo voláteis e lipofílicas. (PEREIRA, 2006; SARTO, 2014). Estes óleos, quando incorporados às matrizes poliméricas, podem enfraquecer sua estrutura devido à interação polímero-óleo, reduzindo também sua transparência. Porém, em decorrência de sua natureza hidrofílica, os óleos essenciais possuem a capacidade de melhorar a barreira ao vapor de água e proporcionar atividade antimicrobiana ao filme. Sua eficácia como um ingrediente ativo dependerá fortemente de sua composição e da composição da matriz polimérica. (ATARÉS; CHIRALT, 2016).

Os óleos essenciais possuem a capacidade de substituir alguns aditivos químicos utilizados nas indústrias. (ALVES-SILVA et al., 2013). Porém, sua utilização diretamente ao alimento é limitada muitas vezes por apresentar sabor e aroma fortes, o que justifica ainda mais o seu uso em embalagens e filmes biodegradáveis. (RUIZ-NAVAJAS et al., 2013).

A Tabela 3 apresenta alguns estudos recentes que avaliam a aplicação de óleos essenciais em filmes comestíveis e sua ação antimicrobiana. Como pode ser observado na

tabela, o óleo essencial de cravo tem sido bastante aplicado como agente antimicrobiano em filmes biodegradáveis de matrizes poliméricas diversas. No trabalho de Echeverría et al., (2016), foram testados 26 microrganismos (listados na Tabela 3) selecionados de acordo com sua importância na área de saúde e na deterioração de alimentos. A determinação da atividade antimicrobiana foi realizada por meio do método de difusão em ágar. A inibição encontrada foi maior para *A. niger* e *P. expansum* e para as bactérias Gram-negativas: *P. phosphoreum* e *V. parahaemolyticus*, sendo que as bactérias Gram-positivas foram mais resistentes à presença do óleo. Neste sentido o óleo essencial de cravo possui um grande potencial para ser utilizado em matrizes poliméricas como um antimicrobiano, devendo alguns fatores serem levados em consideração como a concentração utilizada e a interação com a matriz polimérica.

Conforme mencionado, a interação com a matriz polimérica é um fator que deve ser levada em consideração durante a utilização dos óleos essenciais. Quando não existe compatibilidade entre a matriz e o óleo, emulsificantes e outros agentes podem ser adicionados para que a interação possa acontecer. Um dos compostos que pode ser utilizado é sorbato de potássio, um sal obtido a partir de seu ácido orgânico, que além de apresentar um efeito antimicrobiano também age como plastificante em matrizes poliméricas.

TABELA 3 - ESTUDOS RECENTES COM APLICAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL COM AÇÃO ANTIMICROBIANA.

MATRIZ	ÓLEO ESSENCIAL	MICRORGANISMOS INIBIDOS	REFERÊNCIA
Quitosana	Tomilho	<i>Serratia marcescens</i> , <i>Aeromonas hydrophila</i> , <i>Alcaligenes faecalis</i> , <i>Alcaligene denitrificans</i> e <i>Listeria innocua</i>	(RUIZ-NAVAJAS et al., 2013).
Quitosana	Eucalipto	<i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Candida albicans</i> e <i>Candida parapsilosis</i>	(HAFSA et al., 2016).
Polietileno de Baixa Densidade	Cravo	<i>Salmonella Typhimurium</i> e <i>Listeria monocytogenes</i>	(MULLA et al., 2016).
Amido e Gelatina	Cravo, Canela e Orégano	<i>Colletotrichum gloeosporoides</i> (CG) e <i>Fusarium oxysporum</i> (FOG),	(ACOSTA et al., 2016).
Ácido Polilático	Cravo, Canela e Alho	<i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Campylobacter jejuni</i>	(AHMED; HIREMATH; JACOB, 2016).
Proteína de Soja	Cravo	<i>Aeromonas hydrophila</i> , <i>Aspergillus niger</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Bacillus coagulans</i> , <i>Bifidobacterium animalis subespecie lactis</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i> , <i>Brochothrix thermoshacta</i> , <i>Citrobacterfreundii</i> , <i>Clostridium perfringens</i> , <i>Debaryomyceshansenii</i> , <i>Enterococcus faecium</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus helveticus</i> , <i>Listeria innocua</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Penicillium expansum</i> , <i>Photobacterium phosphoreum</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Salmonella choleraesuis</i> , <i>Shewanella putrefaciens</i> , <i>Shigella sonnei</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Vibrio parahaemolyticus</i> , <i>Yersinia enterocolitica</i> .	(ECHEVERRÍA et al., 2016)

Fonte: O autor, 2016.

2.8 SORBATO DE POTÁSSIO

O sorbato de potássio é um sal obtido a partir do ácido sórbico sendo usado nessa forma por apresentar solubilidade maior que o ácido (JAY, 2005). Sua comercialização ocorre a partir do pó ou grânulos e seu poder antimicrobiano é de 74% quando comparado ao ácido sórbico (SOFOS, BUSTA 1994). É capaz de inibir o crescimento de *Staphylococcus aureus*, *Salmonella sp*, coliformes totais e termotolerantes (JAY, 2005), Bolores e leveduras, *Bacillus cereus* e redução na taxa de psicrotróficos (SOUSA, 2012).

O Food and Drug Administration (FDA) considera o sorbato de potássio e o ácido do qual ele deriva, como aditivos alimentares seguros (FLORES et al., 2007). Além de apresentar propriedades antimicrobianas ele também pode atuar como plastificante em matrizes poliméricas. (FLORES et al., 2010). Quando comparados com outros antimicrobianos tem uma vantagem de apresentar menor coeficiente de partição (óleo/ água). Sendo assim uma parte de sua composição está disponível na fase aquosa evitando o crescimento antimicrobiano.(CASTRO et al., 2003).

Pelo fato de apresentar ação antimicrobiana para os microrganismos já mencionados e atuação como plastificante a aplicação em filmes biodegradáveis tem sido cada vez mais empregada. (FLORES et al., 2010; SHEN et al., 2010; LÓPEZ et al., 2013; BARZEGAR et al., 2014; SOUSA; YAMASHITA; SOARES JÚNIOR, 2016).

2.9 CONSIDERAÇÕES GERAIS

Embalagens, produzidas a partir de biopolímeros e incorporadas com agente antimicrobiano, surgem como uma forma de substituição parcial ou até mesmo total das embalagens produzidas a partir do polímero sintético. No entanto, estas embalagens apresentam algumas limitações em suas propriedades mecânicas e de barreira ao vapor da água e com este intuito estudos têm sido realizados com foco nesta melhoria.

Com este objetivo, filmes a partir de amido de mandioca reforçados com nanocelulose, tem sido alvo de estudos recentes. Os trabalhos mostram que as fontes de extração da nanocelulose tem sido diversas e um foco grande tem sido dado aos resíduos gerados nas industriais e agroindústrias. Os filmes produzidos a partir de amido são hidrofílicos e a nanocelulose pelo seu volume superficial de exposição é capaz de ocupar os espaços vazios e realizar ligações que podem reduzir a permeabilidade ao vapor de água destes filmes e aumentar a resistência mecânica.

Tendo isso em vista, a escolha dos componentes da matriz polimérica (amido) foi fundamentada nos estudos atuais existentes, a sua disponibilidade durante o ano e suas características favoráveis na formação de filmes. A nanocelulose de resíduo de pupunha foi escolhida devido ao fato de não existirem trabalhos com sua aplicação em reforços de filmes de amido, além de ser uma opção de aplicação dos resíduos gerados com a produção de palmito. Com o mesmo intuito de trabalhar com produtos não agressivos ao meio ambiente foram selecionados como agentes antimicrobiano o óleo essencial de cravo e o sorbato de potássio (sal orgânico). Devido a hidrofobicidade do óleo essencial e por não apresentar compatibilidade com a matriz polimérica, este foi utilizado em associação com o sorbato de potássio, a fim de melhorar sua dispersão na matriz polimérica. Sendo assim, pode se aumentar a segurança dos alimentos contra patogenidades e deterioração biológica através da utilização de uma embalagem ativa.

Deste modo, projeta se desenvolver um filme com propriedades mecânicas melhoradas, baixa permeabilidade ao vapor da água, com alta barreira a passagem de luz e baixa solubilidade em água. E a partir do filme com melhores características, elaborar uma embalagem com efeito antimicrobiano com possíveis aplicações como embalagem de alimentos.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado nos laboratórios do programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba – PR e a extração da nanocelulose foi realizada no Laboratório de Polpa e Papel do Departamento de Pós-Graduação em Engenharia Florestal da Universidade Federal do Paraná (UFPR).

3.1 MATERIAL

O amido de mandioca foi adquirido no comércio local (amilose 19,54% e amilopectina 80,46%). Glicerol (CAS No 56-81-5) foi utilizado como plastificante (99,7% de pureza, Neon Química, São Paulo, Brasil).

Bainhas externas de pupunha (*Bactris gasipaes*), obtidas a partir de resíduos da extração comercial do palmito pupunha foram cedidas pelo Instituto Agrônomo do Paraná – IAPAR (Morretes, Paraná, Brasil). Utilizou clorito de sódio - NaClO_2 (80% de pureza, Asher Química, São Paulo, Brasil) e ácido acético glacial - $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$ (99,7% de pureza, Sigma Aldrich, São Paulo, Brasil, para a etapa de branqueamento.

E aos filmes ativos foram utilizados como agentes antimicrobianos o óleo essencial de Cravo (*Eugenia caryophyllus*) – (Isento de impurezas, Ferquima, Brasil) e sorbato de potássio grau alimentício (ápice sul, Curitiba, Brasil) que também exerceu a função de plastificante.

3.2 MÉTODOS

3.2.1. ENSAIOS PRELIMINARES: PREPARO E OBTENÇÃO DOS FILMES

Ensaio preliminares foram realizados com o objetivo de se avaliar a proporção necessária dos materiais (concentrações de fécula de mandioca, glicerol e água), obter filmes maleáveis, flexíveis e viscosidade ideal para o espalhamento no suporte. Sendo assim, as concentrações iniciais utilizadas para o teste foram baseadas no trabalho de Machado et al., (2012) no qual foram estudadas diferentes concentrações de amido (4,5 e 6,0%) e de glicerol (0,5 e 1,5%) na formulação de filmes biodegradáveis adicionados de 0,3% de nanocelulose de fibra de coco. Por fim, os filmes foram elaborados pelo método *casting*, no qual a solução formadora de filmes é vertida em placas (90 mm de diâmetro) e deixadas secar, até que seja evaporado todo o solvente (água).

Na tabela 4 estão apresentados os parâmetros avaliados e as condições testadas nos testes preliminares. A partir dos resultados destes testes foram definidas as condições de trabalho.

TABELA 4 - PARÂMETROS AVALIADOS E CONDIÇÕES TESTADAS

PARÂMETROS AVALIADOS	CONDIÇÕES TESTADAS
Concentração de amido	3,0 g / 4, 0 g / 5,0 g / 6,0 g
Concentração de glicerol	1,0 g / 1, 1 g/ 1,5 g/ 2,0 g
Concentração de NFC	1 , 0 g a 20 g
Concentração de OEC	0,2 g/ 0,3 g/ 0,4 g/ 0,5 g/ 0,6 g/ 0,8 g/ 1,0 g/ 1,2 g/ 1,3 g/ 1,5g
Concentração de SP	1g /2g/ 4g/ 5g
Temperatura Gelatinização	65 °C / 70 °C/ 72 °C / 82 °C
Sequência de adição de componentes	Água + Amido = Gelatinização + Adição de Nanocelulose Água + Amido + Solução de NFC = Gelatinização
Modo de Homogeneização	Banho termostático Agitação direto em chapa magnética
Tempo de banho ultrassônico	2 min/ 3 min/ 4 min/ 5 min/ 10 min/ 12 min/ 14 min
Temperatura de Secagem	15 hs / 18 hs/ 20 hs/ 21 hs/ 24 hs
Tempo de secagem	35° C/ 40 °C
Massa aplicada no suporte	20,0 g/ 20, 1 g/ 20, 2 g/ 20, 3 g/ 20,4 g/ 20, 5 g

FONTE: O autor, 2017.

As concentrações de amido foram testadas com todas as concentrações de glicerol em um total de 16 tratamentos. Para as temperaturas de gelatinização testadas foram consideradas a maior cristalinidade da solução e a menor incorporação de bolhas de ar. tempo A massa aplicada em cada suporte, foi escolhida a fim de se obter filmes com a espessura de aproximadamente 0,120 mm e teor de sólidos padronizado. A secagem dos filmes foi realizada em estufa com ventilação forçada (NOVA ÉTICA, modelo 400/6ND).

Depois de obtida a concentração ideal (amido e glicerol) e com os demais parâmetros de trabalho definidos, diferentes concentrações de NFC foram adicionadas a matriz

polimérica selecionada, com objetivo de definir as formulações estudadas neste trabalho e estabelecer as concentrações máximas e mínimas de NFC. A concentração máxima foi limitada pelo filme obtido, sendo que concentrações iguais e superiores a 19 g de solução de NFC proporcionava filmes extremamente rígidos.

A concentração de SP utilizada, também foi estabelecida a partir de ensaios preliminares. E foram escolhidas baseadas em trabalhos da literatura (FLORES et al., 2007; BERTAN, 2008; SOUSA; YAMASHITA; SOARES JÚNIOR, 2016). Assim como a concentração de OEC foi determinada a partir da inibição apresentada pelos filmes contra os microrganismos estudados.

3.2.2. PREPARO E OBTENÇÃO DA NANOFIBRILA (NFC)

A bainha externa da pupunheira (resíduo gerado durante a extração de palmito de pupunha) cultivada no município de Morretes – PR, foi cedida pelo Instituto Agrônomo do Paraná - IAPAR. A extração da nanocelulose foi realizada no Laboratório de Polpa e Papel do Programa de Pós-Graduação da Engenharia Florestal desta Universidade.

Preparo do Material Lignocelulósicos

As bainhas externas foram utilizadas um dia após o corte das palmeiras e tiveram o tamanho reduzido para “cavacos” (5-10 cm) e estes desidratados em estufa convectiva (NOVA ÉTICA, modelo 400/6ND) a 40 ± 1 °C por 48 horas, para retirada de umidade e prevenção de sua deterioração. Após a secagem, os cavacos (com aproximadamente 4% umidade em base úmida) foram acondicionados em embalagens de polietileno de alta densidade até o momento de sua utilização.

Deslignificação e Desintegração mecânica das fibras de pupunha

O processo de deslignificação ou branqueamento aplicado foi adaptado de Wise, Murphy e D’Adieco (1946), no qual, para cada 10 g de polpa foram utilizados 1,5 g de clorito de sódio (NaClO_2) a 80% e 10 gotas de ácido acético glacial em 160 ml de água destilada. O material foi mantido em banho-maria a uma temperatura de 80°C durante 1 hora. Foram realizadas três etapas de deslignificação, sendo que em cada intervalo a polpa foi lavada com água em abundância a fim de eliminar possíveis resíduos de NaClO_2 .

Após o branqueamento, as bainhas foram submetidas a desintegração mecânica em moinho desintegrador de disco tipo Bauer, para promover a individualização das fibras.

Obtenção das nanofibrilas de celulose

O processo mecânico de desfibrilação foi através do tratamento de soluções com aproximadamente 2% de fibras de pupunha (peso em base seca) e água destilada em moinho Super Masscolloider Masuko Sangyo (MKCA6-3; Masuko Sangyo Co., Ltda), com distância entre discos de 0,1 mm e frequência de 1500 rpm. Após 20 passagens da solução no moinho, foi obtida a suspensão de nanocelulose.

3.2.3. PREPARO DOS FILMES

A partir dos ensaios preliminares foi possível desenvolver o método de preparo dos filmes descrito abaixo e resumido no fluxograma da figura 3 e estabelecer as formulações estudadas neste trabalho, listadas na tabela 5.

Os filmes foram preparados a partir de 4,0 g de amido, 1,1 g de glicerol dispersos em 100 ml de água destilada, a solução foi cuidadosamente agitada em banho termostático até temperatura de 72 °C para a gelatinização do amido com posterior resfriamento até 58 °C. A nanocelulose em gel (aproximadamente 2% \pm 0,12 de sólidos) foi adicionada em diferentes concentrações (12 g, 14 g, 16 g e 18 g/100 g de água destilada). A formadora de filme foi submetida a banho ultrassônico durante 3 minutos para a eliminação de possíveis bolhas de ar incorporadas durante o processo de gelatinização do amido. O filme controle foi preparado sem adição de nanocelulose e com as mesmas concentrações de glicerol e amido. Estes filmes foram denominados como Controle, 1, 2, 3 e 4, onde o número corresponde à concentração de nanocelulose adicionada (1 = 12 g/ 2 = 14 g/ 3 = 16 g/ 4 = 18 g). Cada formulação foi repetida por meio de duplicatas.

TABELA 5- FORMULAÇÕES E CONCENTRAÇÕES (g/ 100 g de água) ESTUDADAS: AMIDO DE MANDIOCA (AM), GLICEROL (G) E SOLUÇÃO DE NANOFIBRILA DE CELULOSE (SNFC).

FORMULAÇÃO	CONCENTRAÇÃO AM (g/100g)	CONCENTRAÇÃO G (g/100g)	CONCENTRAÇÃO SOLUÇÃO DE SNFC (g/100g)
1	4	1,1	12
2	4	1,1	14
3	4	1,1	16
4	4	1,1	18
CONTROLE	4	1,1	-

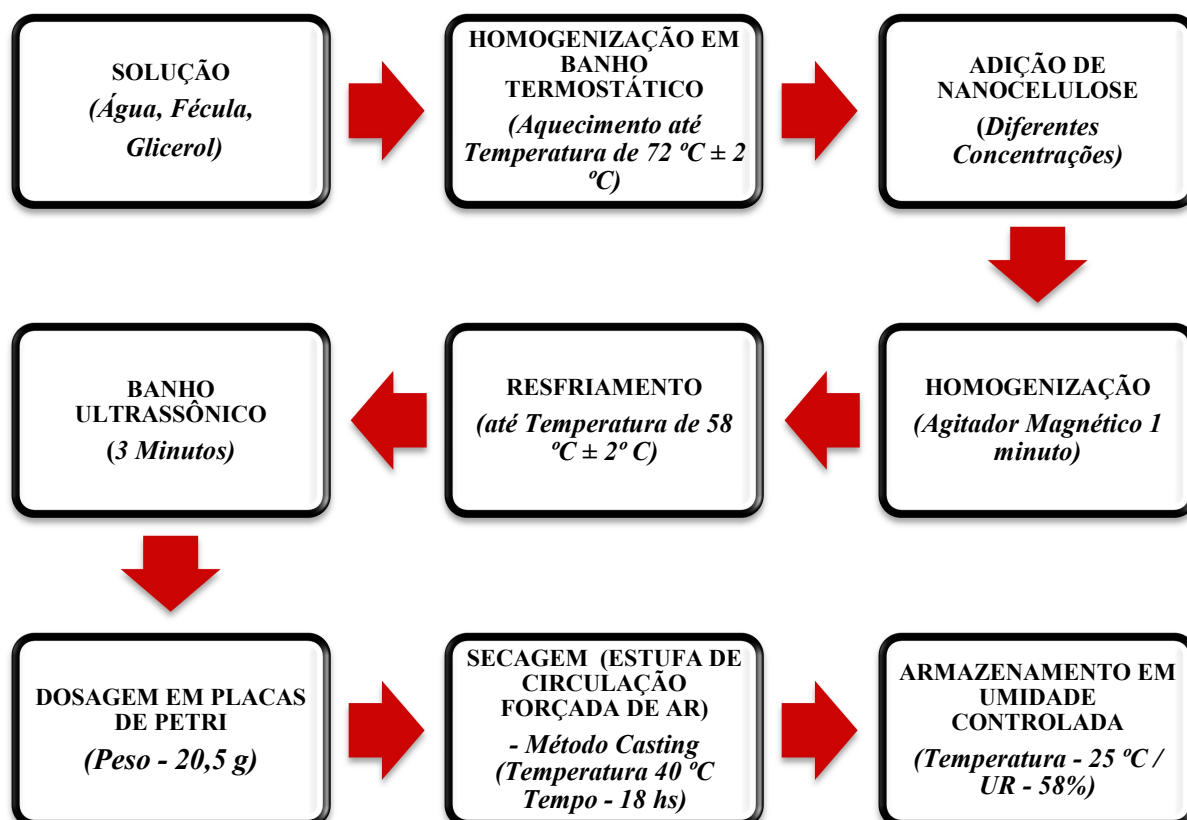
FONTE: O Autor, 2017.

Um volume pré-determinado (20.5 g) de solução formadora de filmes foi espalhada uniformemente sobre placas acrílicas (8.5 cm de diâmetro) que posteriormente foram acondicionadas sob uma superfície nivelada, em estufa com circulação de ar forçado à $35\text{ }^{\circ}\text{C} - 18 \pm 3\text{h}$.

Após secagens os filmes foram removidos dos suportes e acondicionados em dessecador com umidade e temperatura controlados (58%, $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ - solução saturada de Nitrato de Magnésio), por período de 7 dias antes da realização das análises de caracterização (ARENAS, 2012 ; CARPINÉ, 2015).

FIGURA 3 - PROCEDIMENTO DE PREPARO DOS FILMES BIODEGRADÁVEIS.

FONTE: O Autor, 2017.



O filme controle e os filmes incorporados de diferentes concentrações NFC foram caracterizados quanto as propriedades: físicas (aspecto visual, espessura, atividade de água, umidade, solubilidade em água, permeabilidade ao vapor d'água), ópticas (cor e transparência), mecânicas (resistência e elasticidade), estabilidade térmica (TG/TGA), morfológicas (Microscopia Eletrônica de Varredura) e interação entre os componentes (FTIR - Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier). Do mesmo modo, a NFC de resíduo de pupunha também foi caracterizada quanto a sua morfologia (MEV) e comprimento das fibras (MET). E amido de mandioca comercial foi caracterizado com o teor de amilose e amilopectina.

3.2.4. CARACTERIZAÇÃO DA NANOFIBRILA

A caracterização morfológica e determinação da espessura média das nanofibrilas foram realizadas através de análises de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET), no Centro de Microscopia Eletrônica da UFPR.

Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

A caracterização das estruturas e dimensões da celulose nanofibrilada foi realizada utilizando o Microscópio Eletrônico de Transmissão Joel - JEM 1200EX-II – com resolução de 0,5 nm e magnificações de até 600 kX, com câmera de alta resolução CCD Gatan (Orius SC1000B). A solução diluída de nanofibrilas (0,05 %) foi depositada sobre um suporte (rede metálica de 200 mesh recoberta por uma membrana de parlódio).

Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A morfologia das nanofibrilas foi visualizada em Microscópio Eletrônico de Varredura FEI (Quanta 450 FEG). O preparo prévio, consistiu na fixação da suspensão diluída (0,05%) de nanofibrilas e posterior metalização.

3.2.5. CARACTERIZAÇÃO DO AMIDO COMERCIAL

O teor de amilose e amilopectina foi determinado segundo metodologia ISO. Determination de la teneur en amylose. ISO 6647. International Organization for Standarization, Suíça, 1987 e CHRASTIL, J. (1987). Improved calorimetric determination of

amylose in starches of flours. Carbohydrate Research, v. 159, n. 1, p. 154 – 158, 1987. Como amido de referência foi utilizado o amido de mandioca AMITEC com $18,432 \pm 0,168$ % de amilose em base seca. O cálculo do teor de amilose foi realizado conforme fórmula abaixo sendo a porcentagem de amilopectina determinada pela diferença de 100 e o teor de amilose encontrado.

$$\% \text{ Amilose} = \frac{\% \text{ Amilose amido referência}}{\text{Absorbância amido utilizado}} \times \text{Absorbância amido referência} \quad (1)$$

$$\% \text{ Amilopectina} = 100 - \% \text{ Amilose encontrada} \quad (2)$$

3.2.6. CARACTERIZAÇÃO FÍSICA DOS FILMES

Aspecto visual

Os filmes foram avaliados e selecionados conforme avaliações visuais e táteis, incluindo a presença de bolhas de ar, incorporadas durante o processo de gelatinização, coloração uniforme, inexistência de fases ou precipitados no filme, homogeneidade e ausência de fissuras. Para que fossem considerados filmes adequados, estes deveriam se apresentar maleáveis, flexíveis e de fácil remoção do suporte.

Espessura

A espessura dos filmes foi avaliada por meio de micrômetro digital (resolução 0,001 mm – Mitutoyo, Japão). As medidas foram executadas em 5 pontos distintos e aleatórios em todas as extremidades dos filmes, sempre 2 mm afastado da borda. A espessura geral foi considerada como a média aritmética de 15 repetições. Para a análise de permeabilidade ao vapor d'água foram realizadas cinco medidas de espessura centrais (região do filme exposta na cápsula e propriedades mecânicas).

Umidade

O teor de umidade foi determinado em triplicata, por meio de secagem em estufa a 105 °C até peso constante, conforme metodologia do Instituto Adolf Lutz (2008).

Atividade de água

A atividade de água foi medida em amostras de 2 cm² de diâmetro em medidor Aqualab (Aqualab Series 3TE, Decagon - Inc). As amostras foram acondicionadas previamente em dessecador com umidade controlada (58%, 25 °C) para realização dos ensaios. A análise foi realizada em triplicata.

Solubilidade em Água

A solubilidade em água foi determinada de acordo com a metodologia de Blanco-Pascual et al., (2013), com modificações. Neste método, segmentos dos filmes de 30 mm de diâmetro foram secos em estufa a 105 °C por 24 horas com subsequente determinação de massa. Após secagem, as amostras foram imersas em 50 mL de água destilada e acondicionadas por 24 horas a 23 °C. A solução foi filtrada em peneira, abertura da malha de 0,02 mm, onde o filme não dissolvido retido na peneira foi seco em estufa (105 °C, 24 horas). A solubilidade (*S*) foi calculada de acordo com a Equação 1. O ensaio foi realizado em triplicata.

$$S(\%) = \frac{(M_i - M_f) * 100}{M_i} \quad (3)$$

sendo *M_i* a massa inicial do filme (expressa em massa seca), e *M_f* a massa seca do resíduo não dissolvido em água.

Permeabilidade ao vapor d'água

A permeabilidade ao vapor d'água (PVA) foi determinada por método gravimétrico, ensaio padrão para a transmissão de vapor d'água em materiais, dado pela norma E96/96M-13 da American Society for Testing and Materials (ASTM, 2013), com modificações. Os filmes foram selados sobre as células de permeação circulares de vidro, Figura 4 (diâmetro interno de 0,04 m e profundidade 0,057 m), com área de exposição dos filmes de 0,00126 m². Para o preparo das soluções aquosas saturadas foram utilizados dois sais, com grau analítico, para proporcionar ambientes com diferentes umidades relativas (UR) com valores de 75% (cloreto de sódio, NaCl) e 54% (nitrato de magnésio hexahidratado, Mg (NO₃)₂ 6H₂O). Dentro das cápsulas de permeabilidade ao vapor d'água foi utilizado o cloreto de cálcio anidro puríssimo

(CaCl₂), para proporcionar um ambiente com 0% de umidade. Os sais foram adquiridos da Labmaster LTDA (Pinhais, Brasil), Panreac Química (Barcelona, Espanha) e Vetec Química (Rio de Janeiro, Brasil), respectivamente.

Dentro das cápsulas foi adicionado cloreto de cálcio anidro (0% UR) e o conjunto (cápsula/filme) foi acondicionado em dessecador com solução saturada de cloreto de sódio (NaCl) (25 °C, 75% UR) sendo sua massa aferida previamente. O ganho de massa das células foi monitorado a cada 24 horas durante sete dias. Durante este período o ganho de massa mostrou tendência linear com o tempo. A inclinação desta reta foi calculada por regressão linear e utilizada para o cálculo da PVA (Equação 2).

$$PVA = \frac{G \ x}{t \ A \ \Delta P} = \frac{G \ x}{t \ A \ S(R_1 - R_2)} \quad (4)$$

sendo, G/t a taxa de ganho de massa com o tempo inclinação da reta (inclinação da reta), A é a área do filme exposta a permeação (m²), x é a espessura aferida média da área exposta do filme (m), ΔP é a diferença de pressão de vapor do ambiente com a solução saturada (75%) e do ambiente interno da cápsula (Pa), S é a pressão de vapor d'água saturado na temperatura de acondicionamento das cápsulas (Pa), R_1 é a umidade relativa do dessecador que com solução saturada de NaCl (75% UR) expresso em fração e R_2 é a umidade relativa do interior da cápsula contendo o cloreto de cálcio (0% UR) expresso em fração.

Figura 4 - Células de permeação para o cálculo da PVA – Sistema completo



Fonte: O autor, 2017.

3.2.7. PROPRIEDADES ÓPTICAS

Para a determinação da cor dos filmes foi utilizado o colorímetro de reflectância MiniScan XE Plus (Hunter Associates Laboratory Inc., Naperville, IL, E.U.A), previamente calibrado. A análise cromática será realizada pelo emprego do sistema CIELab (Commission International de L'Eclairage), no qual valores de L^* , a^* e b^* serão medidos a fim de descrever um espaço de cor tridimensional. Nesta escala colorimétrica, L^* indica a luminosidade e sua leitura varia de 0 a 100, onde 0 indica uma superfície completamente opaca/preta e 100 indica um material completamente transparente ou branco; os valores de a^* indicam variação do vermelho ao verde ($+a$ = vermelho e $-a$ = verde), e os valores de b^* demonstram variação de cor do azul ao amarelo ($+b$ = amarelo, $-b$ = azul) (HUNTERLAB, 1996). A variação total de cor (ΔE^*) foi calculada por meio da Equação 3.

$$\Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (5)$$

sendo: ΔL^* = variação de luminosidade; Δa^* = variação na tonalidade do campo a ; e Δb^* = variação na tonalidade do campo b .

Transparência

A transparência dos filmes foi determinada utilizando espectrofotômetro UV-VIS (Shimadzu, UV-1800, Japão), conforme metodologia de Chen, Zang e Zhao (2015), com modificações. Os filmes foram recortados em formato retangular (45 x 12,5 mm), os quais foram fixados em um dos lados externos da cubeta de quartzo para a realização da leitura. A cubeta vazia foi utilizada como padrão. A leitura da transmitância foi realizada em triplicata a 560 nm.

3.2.8. PROPRIEDADES MECÂNICAS

RESISTÊNCIA E ELASTICIDADE

A resistência à tração (RT, Mpa) e a elongação na ruptura (ELO, %) foram determinadas nos filmes utilizando texturômetro Brookfield CT3 (Brookfield Engenharia, EUA), utilizando a probe TA – DGA (conjunto de aperto duplo, Brookfield) de acordo com o método padrão D882–12 (ASTM, 2012). Foram utilizados corpos de prova retangulares nas

medidas de 80 mm x 25 mm. A velocidade da probe e a separação inicial das garras foram de 0,001 m.s⁻¹ e 40 mm, respectivamente. Para cada formulação foram realizadas 10 repetições. A RT foi calculada de acordo com a Equação 4 e a ELO de acordo com a Equação 5.

$$RT = \frac{F_m}{A} \quad (6)$$

Sendo:

RT: resistência à tração (MPa).

F_m: força máxima no momento de ruptura do filme (N).

A: área da seção transversal do filme (m²).

ELO: alongação dos filmes (%).

d_r (distância de ruptura): distância de separação no momento da ruptura da amostra (mm), que representa a diferença entre distância de separação no momento da ruptura e a distância inicial (40 mm).

d_i (distância inicial): distância inicial de separação entre as garras (40 mm).

$$ELO = 100 \times \frac{d_r - d_i}{d_i} \quad (7)$$

3.2.9. MORFOLOGIA DOS FILMES

Microscopia Eletrônica de Varredura – MEV

As análises de caracterização foram realizadas no Centro de Microscopia Eletrônica da UFPR. Os aspectos morfológicos da superfície e da seção transversal dos filmes foram investigados por meio de análises de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV, Tescan Veja 3 LMU). Precedente às análises, os filmes foram acondicionados em dessecador com sílica gel a 25 °C por um período de sete dias, a fim de possibilitarem a crioatuação.

As amostras foram fixadas em suportes com fita de cobre e metalizadas por uma fina camada de ouro (Balzers Union, modelo FL 9496). A captura das imagens foram realizadas utilizando voltagem de aceleração de 15 kV e aumento de 250, 1000, 5000, 10000 e 20000.

3.2.10. PROPRIEDADES TÉRMICAS

Análise Termogravimétrica (TGA)

Os filmes foram analisados por análise termogravimétrica em equipamento TGA (modelo 4000, PerkinElmer, USA) a fim de avaliar sua estabilidade térmica e degradação. Foram utilizadas amostras de massa entre 4 e 6 mg, as quais foram aquecidas de 30 a 600 °C a uma taxa de 10 °C.min⁻¹. Como gás de purga utilizou-se nitrogênio, com vazão de 20 mL.min⁻¹, de modo a evitar as reações termo-oxidativas. A interpretação dos dados foi realizada por meio da análise das curvas de TGA e DTG (derivada termogravimétrica) obtidas a partir das análises.

3.2.11. ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER – FTIR

As amostras e o controle foram analisados por meio de espectroscopia na região do infravermelho médio com transformada de Fourier (FTIR), conforme descrito por Vicentini, (2003). A análise foi realizada utilizando o equipamento Vertex 70 (Bruker, USA), com acessório de refletância total atenuada (ATR), equipado com um cristal de carbono, a 25 ± 2 °C. E a faixa espectral de utilizada foi de 600 – 4000 cm⁻¹ e resolução de 4 cm⁻¹, onde os filmes foram acondicionados em suporte e comprimidos a alta e controlada pressão. Para cada filme foram realizadas 16 varreduras que foram suficientes para obtenção de picos sem interferentes (ruídos).

3.2.12. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA - MÉTODO DE DIFUSÃO EM DISCO

Determinação da concentração mínima inibitória do óleo essencial

A capacidade antimicrobiana do óleo essencial de cravo foi investigada contra os seguintes microrganismos: *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Staphylococcus aureus* ATCC 25023, *Salmonella choleraesuis* ATCC 10708 e *Escherichia coli* ATCC 25023. Assim sendo, as culturas de cada patógeno foram cultivadas separadamente em caldo BHI a 37 °C/18 h e adicionados a um erlenmeyer contendo BHI semi-sólido (adicionado de 0,8% de ágar bacteriológico), a fim de obter uma concentração de 5 a 6 log UFC/ml. O ágar semi-sólido foi transferido para uma placa de Petri estéril e após a solidificação foram adicionados os filmes

com dimensões definidas (20 mm de diâmetro), método adaptado de SMITH-PALMER; STEWART; FYFE, (1998).

A concentração mínima inibitória do óleo essencial de cravo foi avaliada pela impregnação do óleo em filtro de papel estéril e pelo método da difusão em disco foi avaliada a ausência visível do crescimento microbiano. Com isso, os filtros de papel (diâmetro de 20 mm) foram embebidos com quatro concentrações distintas de óleo essencial de cravo (0,005 ml, 0,006 ml, 0,007 ml e 0,008 ml) e posicionados sobre a superfície do meio solidificado com microrganismo difundido ao meio, conforme mencionado anteriormente. Por ultimo, as placas de petri foram incubadas (37 °C) durante 24 h. A capacidade antimicrobiana do óleo foi verificada através da formação de uma área clara formada ao redor dos discos, sendo considerada como a zona de inibição formada. Os resultados foram expressos como halo de inibição (mm) e porcentagem de inibição e este foi calculado a partir da medida realizada em cada placa.

A partir destes resultados, foram estabelecidas as concentrações mínimas de óleo necessárias a serem incorporadas a matriz polimérica com o propósito de obter inibição. Um balanço de massa, partindo dos testes de inibição mínima foi aplicado. O calculo foi realizado de tal forma que no filme (após a secagem) a concentração de OEC fosse a mesma presente no papel filtro embebido com a concentração de óleo que apresentasse inibição. A evaporação do OEC não foi levada em consideração para realização dos cálculos.

A metodologia utilizada para verificar a capacidade de inibição dos filmes incorporados de óleo e sorbato de potássio foi a mesma descrita anteriormente. Os teste foram realizados em duplicata três dias após a produção e estabilização dos filmes em ambiente com umidade controlada (58 % UR, 25 °C).

3.2.13. PREPARO DOS FILMES ATIVOS

Os filmes ativos foram preparados a partir da metodologia citada anteriormente para os filmes não ativos, com algumas modificações necessárias, descritas a seguir, devido a presença do óleo e sorbato de potássio. À formulação padrão selecionada foram adicionadas concentrações distintas de óleo essencial de cravo (0,8 g, 1,0 g, 1,1 g, 1,2 g, 1,5 g, 2,0 g, 2,2 g, 2,8 g, 3,0 g e 3,2 g) e diferentes concentrações de sorbato de potássio (1.0 g, 2.0 g, 3.0 g e 5.0 g). Sendo assim, o amido foi diluído em água destilada, junto com o glicerol. O óleo, o sorbato foram dissolvido em água morna e na sequência adicionado aos demais componentes da solução. Essa solução foi submetida a agitação mecânica através do ultra-turrax (T25

digital, IKA, Germani) em rotação de 13600 rpm durante 4 minutos, este binômio (velocidade e tempo) foi utilizado por possibilitar uma melhor incorporação do óleo na matriz polimérica. As demais etapas seguiram o mesmo fluxograma de processo estabelecidos para os filmes com ausência dos agentes antimicrobianos. A tabela 5 estão apresentadas as nomenclatura dos filmes e as formulações utilizadas.

Estes filmes foram denominados como Controle, 1S, 2D e 3F, onde a letra corresponde à ausência de óleo e a concentração adicionada (S = Sem óleo/ D = 1,2 g/ 3 = 1,5 g). Cada formulação foi repetida por meio de duplicatas.

TABELA 6- FORMULAÇÕES E CONCENTRAÇÕES (G/ 100 G DE ÁGUA) ESTUDADAS: CONC. AMIDO DE MANDIOCA (AM), CONC. GLICEROL (G), CONC. SOLUÇÃO DE NANOFIBRILA DE CELULOSE (SNFC), CONC. ÓLEO ESSENCIAL DE CRAVO (OEC) E CONC. SORBATO DE POTÁSSIO (SP).

FORMULAÇÃO	CONC. AM (g/100g)	CONC. G (g/100g)	CONC.SNFC (g/100g)	CONC.OEC (g/100g)	CONC.SP (g/100g)
CONTROLE	4,0	1,1	16,0	-	-
1S	4,0	1,1	16,0	-	2,0
2D	4,0	1,1	16,0	1,2	2,0
3F	4,0	1,1	16,0	1,5	2,0

FONTE: O Autor, 2017.

4 APRESENTAÇÃO DOS RESULTADOS

4.1 RESULTADOS PRELIMINARES

O aspecto visual dos filmes foi um fator relevante e de grande importância para definição da metodologia de trabalho e formulações estudadas. A tabela 7 apresenta os dados das condições de trabalho escolhidos de acordo com os parâmetros avaliados.

TABELA 7 - PARÂMETROS AVALIADOS E CONDIÇÕES ESCOLHIDAS PARA CADA PARÂMETRO

PARÂMETROS AVALIADOS	CONDIÇÕES ESCOLHIDAS
Concentração de amido	4,0 g
Concentração de glicerol	1,1 g
Concentração de NFC	12,0/ 14,0 g/ 16,0 g/ 18, 0 g
Temperatura Gelatinização	72 °C
Sequência de adição de componentes	Água + Amido = Gelatinização - Adição de Nanocelulose
Modo de Homogenização	Banho termostático
Tempo de banho ultrassônico	3 min
Temperatura de Secagem	18 hs
Tempo de secagem	40 °C
Massa aplicada no suporte	20, 0 g a 20, 5 g

Para as concentrações de amido testadas foi possível levantar os seguintes pontos: que soluções contendo 3,0 g de amido, independente da concentração de glicerol aplicada, produziam filmes muito frágeis que se quebravam durante a retirada do suporte. Formulações com concentrações de amido de 5,0 g e 6,0 g proporcionavam soluções com viscosidade elevada o que impossibilitava o espalhamento uniforme na placa, o que gerou filmes tortos, desiguais e muito espessos, independente da concentração de amido e glicerol utilizada. No entanto, as soluções com concentrações de 4,0 g de amido apresentaram comportamento diferenciado do apresentado pelas outras duas concentrações (5,0 g e 6,0 g). Sendo possível perceber que os filmes obtidos eram facilmente removíveis do suporte, com espessura uniforme e a viscosidade da solução era ideal para o espalhamento na placa. Entretanto, foi

possível perceber que havia influencia do glicerol nas características visuais e táteis do filme final. Em concentrações de glicerol inferiores a 1,1 g/100.0 g de água o filme se apresentava menos flexível e concentrações acima desse valor estes eram pegajosos, com excesso de elasticidade e que rasgavam com facilidade, provavelmente pelo efeito plastificante do glicerol, que reduz a força de tensão para concentrações elevadas e sendo a força aumentada em concentrações reduzidas. Um efeito similar foi observado no trabalho de DE SOUZA, (2011) no qual concentrações elevadas de glicerol (acima de 1,5 g / 100.0 g de solução) em filmes de amido de mandioca, também proporcionou filmes frágeis e com rupturas ao serem retirados do suporte. O mesmo foi verificado no trabalho de MALI et al., (2004) em que altas concentrações (1,2 g / 100 g de solução) de glicerol em uma matriz polimérica de amido também apresentou o mesmo comportamento anteriormente citado. Logo, a concentração base de amido e glicerol estabelecidas foram: 4,0 g e 1,1 g, respectivamente.

Os testes realizados a partir da temperatura de gelatinização do amido de mandioca (65 °C), apontaram que nessa temperatura a solução ainda se apresentava pouco viscosa, provavelmente por não ter ocorrido a gelatinização da maioria dos grânulos de amido (intervalo de 58 °C a 65 °C). O aumento da temperatura propiciava soluções com maior transparência e maior viscosidade, porém era possível observar a formação de bolhas em excesso quando as temperaturas eram superiores a 72 °C. Devido a isso, essa temperatura foi definida como a temperatura ideal de trabalho (72 °C). Nas imagens obtidas a partir do MEV (figura 7) é possível observar que a maioria dos grânulos de amidos foram gelatinizados. O método de gelatinização em banho termostático foi mais eficiente por proporcionar o aquecimento menos agressivo e conseqüentemente uma redução na quantidade de bolhas produzidas durante o processo de gelatinização.

A forma de adição dos ingredientes que melhor se adequou ao processo, originando filmes bem formados e homogêneos foi através da dispersão do amido e glicerol em água fria com posterior gelatinização de toda a solução. A NFC foi adicionada após a gelatinização do amido. Outro ponto importante foi a etapa de ultrassom, utilizado para retirada de bolhas de ar incorporados durante o processo de gelatinização, na qual tempo acima de três minutos provocava a precipitação das partículas de NFC e perda de viscosidade da solução não levando a formação filmes após o tempo de secagem.

Entre as cinco diferentes concentrações de massas aplicadas no suporte para secagem a concentração de 20,0 a 20,5 g foi a que proporcionou a espessura de trabalho desejada (0,110 a 0,123 mm) e devido a isso foi estabelecida como padrão. E por fim, o tempo e a temperatura

de secagem foram baseadas nas características obtidas do filme final, onde a combinação de menor tempo (18hs) e maior temperatura (40 °C) foram a prioridade para as escolhas.

Portanto, os resultados preliminares foram importantes para definir as condições de trabalho, as concentrações de cada ingrediente e permitir a caracterização somente de filmes que apresentaram características visuais desejáveis. Foi uma forma de direcionar o trabalho e descartar formulações que produziam filmes fracos e quebradiços.

Entre as concentrações de sorbato testadas a concentração 2g/100g foi a que possibilitou a obtenção de filmes nas características desejadas: flexíveis, maleáveis, removíveis do suporte, além de apresentar poder de inibição para um dos microrganismos testados. Já, concentrações abaixo de 2g não apresentaram poder de inibição e acima produziram filmes bastante quebradiços, opacos e com precipitação do sorbato. Um comportamento similar foi observado no trabalho de Bertan, (2008) em filmes de amido de mandioca, gelatina e glúten adicionados de SP. Por outro lado, Sousa, (2012) utilizando concentrações de 1 a 5% de SP em filmes de farinha de arroz e PBAT, não apontou diferença nas propriedades mecânicas.

No geral, os filmes desenvolvidos foram maleáveis, homogêneos, facilmente removíveis do suporte e não se apresentaram quebradiços, características também obtidas por outros autores em filmes de diversas matrizes (FLORES et al., 2007a; SOUZA et al., 2012; CARPINÉ, 2015; ECHEVERRÍA et al., 2016).

4.2 CARACTERIZAÇÃO DO AMIDO COMERCIAL

O teor de amilose encontrado para o amido comercial utilizado foi de $19,54 \% \pm 0,01$ e o teor de amilopectina de $80,46 \% \pm 0,02$. O teor de amilose encontrado foi bem superior ao encontrado no trabalho de Cano et al., (2014), que obteve valor de $9,0 \% \pm 2$, a origem botânica do amido pode ser o responsável por essa diferença. Quando comparado com teor de amilose (20,8%) e amilopectina (79,2%) em amido de mandioca, encontrado no trabalho de Alves et al., (2007), os valores encontrados nesse trabalho foram próximos.

A proporção entre a amilose e amilopectina podem influenciar no comportamento mecânico dos filmes devido ao diferente comportamento das duas moléculas. (CANO et al., 2014). Sendo que, quanto maior o teor de amilose do amido utilizado para a produção de filmes, maior será a força de tensão dos filmes formados. A presença do glicerol tende a reduzir essa força devido a interação entre o glicerol e as cadeias de amilose. (THARANATHAN, 2003, ALVES et al., 2007).

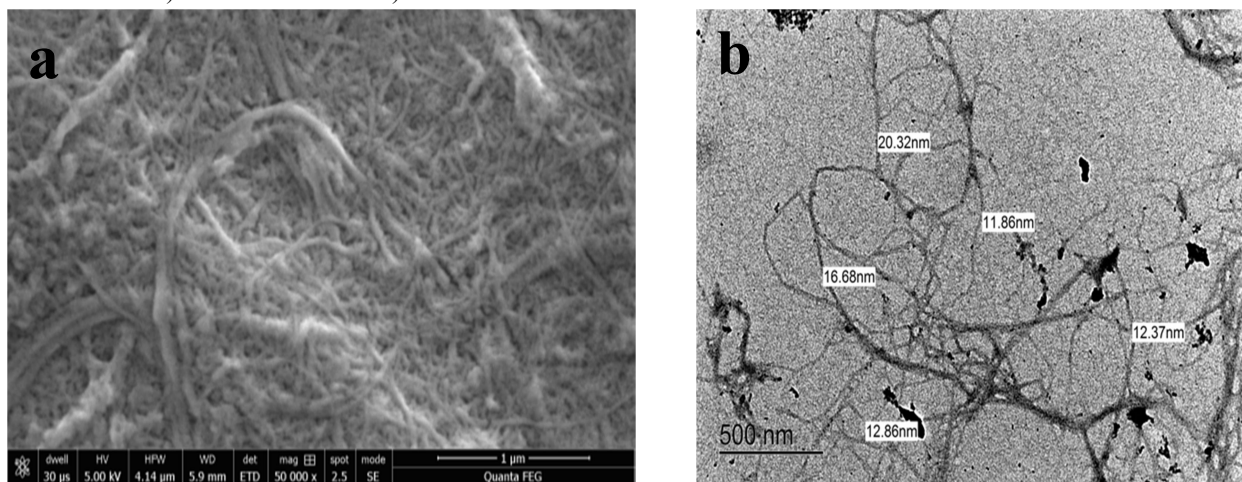
4.3 CARACTERIZAÇÃO DA NANOCELULOSE

O processo de desfibrilação mecânica aplicado possibilitou a obtenção de nanofibrilas com diâmetros médios variando entre 10 a 30 nm. A morfologia aparente das fibrilas (Figura 1 a) permite observar que após o tratamento mecânico foram obtidas NFC dispostas em forma de fibras longas, emaranhadas e dispersas em várias direções, uma conformação espacial característica dessas estruturas, por apresentarem um comprimento muito maior que a espessura.

Para serem consideradas nanofibrilas, as estruturas devem apresentar espessuras na escala nanométrica, o que pode ser confirmado a partir das medidas obtidas pela MET e visualizado nas micrografias obtidas (Figura 5 b).

Conforme proposto por Chen et al., (2014) as fibras se conformam em feixes que são resultantes das ligações de hidrogênio que ocorrem entre as fibras através das hidroxilas livres existente na superfície das NFC. Andrade-Mahecha et al., (2015), obteve NFC de Achira com diâmetro entre 13,8 e 37,2 nm, valores similares ao encontrado neste trabalho.

FIGURA 5- MICROGRAFIAS OBTIDAS A PARTIR DA SOLUÇÃO DE NANOFIBRILA DE RESÍDUO DE PUPUNHA. A) MEV – 50 000 X B) MET DE NANOFIBRAS COM DIFERENTES DIMENSÕES.



4.4 CARACTERIZAÇÃO FÍSICA DOS FILMES

A tabela 8 apresenta os resultados da caracterização física dos filmes após 7 dias em temperatura e umidade controlada.

TABELA 8- CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES APÓS 7 DIAS EM DESSECADOR COM UMIDADE E TEMPERATURA CONTROLADA (58% , 25 °C): ESPESSURA (E), UMIDADE (U), ATIVIDADE DE ÁGUA (Aw) , SOLUBILIDADE (S) E PERMEABILIDADE AO VAPOR DA ÁGUA (PVA).

Formulação	E (mm)	U (%)	Aw	S (%)	PVA ($\text{g m}^{-1} \text{s}^{-1} \text{Pa}^{-1}$) $\times 10^{-10}$
Controle	0,122 ^a ± 0,002	14,168 ^a ± 0,3	0,592 ^a ± 0,003	23,811 ^a ± 2,2	1,55 ^a ± 0,1
1 (12g NFC)	0,122 ^a ± 0,001	11,913 ^b ± 0,1	0,537 ^b ± 0,010	19,853 ^b ± 1,3	1,23 ^b ± 0,1
2 (14g NFC)	0,121 ^a ± 0,003	11,858 ^b ± 0,5	0,521 ^{cd} ± 0,007	18,010 ^{bc} ± 0,9	1,27 ^b ± 0,1
3 (16g NFC)	0,121 ^a ± 0,002	11,703 ^b ± 0,0	0,517 ^d ± 0,008	16,894 ^c ± 0,2	1,14 ^b ± 0,2
4 (18g NFC)	0,123 ^a ± 0,002	11,550 ^b ± 0,1	0,533 ^{bc} ± 0,005	16,430 ^c ± 0,3	1,20 ^b ± 0,1

As médias ± desvios-padrão seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente a um nível de significância de 5 %, pelo teste de Tukey (p < 0,05).

A espessura é um fator importante a ser controlado, pois afeta as propriedades de barreira ao vapor da água, resistência mecânica e opacidade dos filmes. Os valores de espessura variaram de 0,121 mm a 0,123 mm não apresentando diferença (p < 0,05) entre as formulações testadas, o que confirma que a nanocelulose incorporada se encontra em dimensões nanométricas, uma vez que o tamanho das partículas não influenciou na espessura. Outro fator que justifica essa uniformidade na espessura é a utilização de gramatura de 0,361 g cm⁻² fixada para todas as formulações. Fan (2015) obteve valores de espessura entre 0,120 a 0,160 mm para filmes de amido impregnados com nanopartículas de amido, valores próximos ao obtido nesse trabalho.

A umidade, PVA, atividade de água e solubilidade são parâmetros que estão diretamente relacionados com a interação da água com a matriz polimérica e fornecem informações sobre as condições de armazenamento e utilização dos filmes. A incorporação de nanocelulose aos filmes reduziu em 18% o teor de umidade destes quando comparados ao filme controle, não havendo diferença significativa entre as diferentes concentrações adicionadas. Da mesma forma, TEODORO et al., (2015) também obtiveram valores de umidade reduzidos em filme de amido reforçados com nanopartículas, sendo o mesmo relatado por FAN et al., (2016) em filmes de amido de mandioca com nanopartícula de amido acetilado.

A atividade de água mede a água livre para realização de reações (microbiológicas e enzimáticas) e quanto menor seu valor maior o grau de interação entre a água e a matriz na qual ela está inserida. Neste estudo a atividade de água reduziu conforme a concentração de nanocelulose foi aumentada. O que evidencia que a presença da nanocelulose tornou a água mais ligada a matriz polimérica, através de ligações de hidrogênio, com consequente redução dos valores de atividade de água aferidos. Este fato pode ser observado até uma determinada concentração de NFC (formulação 3 – 16,0 g de NFC) sendo que a partir dela ocorre um

aumento do valor sendo este estatisticamente igual a formulação 1 (12,0 g de NFC). Provavelmente, concentrações elevadas de nanocelulose ocasionam aglomeração das nanofibrilas o que pode ser visualizado nas imagens de MEV figura 7, pois as nanofibrilas preferencialmente realizam ligações de hidrogênio entre si e em menor quantidade com água, deixando a livre para outras ligações. No trabalho de Da Silva et al. (2015) a adição de nanocelulose também reduziu a atividade de água em filmes de amido de mandioca.

Os filmes incorporados de nanocelulose apresentaram solubilidade em água reduzida em 31% quando comparados com o filme controle. Quanto maior o teor de nanocelulose adicionada menor foi a solubilidade do filme, no entanto as formulações 2, 3 e 4 (18%, 16% e 16%) não se diferenciaram ($p < 0,05$) assim como as formulações 1 e 2 (19% e 18%) foram iguais estatisticamente. Esse mecanismo está associado a interação que as nanopartículas possuem com a matriz polimérica, na qual a preferência é manter as ligações com a matriz do que desfazer e se ligar com a água. Esse comportamento era esperado uma vez que a nanocelulose possui a capacidade de realizar essas ligações, pela sua elevada superfície de contato e volume de exposição, e por apresentar hidroxilas livres sobre a sua superfície, para reagir com a matriz polimérica. Esse resultado condiz com os obtidos para umidade e atividade de água e concorda com a solubilidade atingida no trabalho de (GUIMARÃES et al., 2015), no qual a presença de nanofibras de bambu em uma matriz polimérica de amido de mandioca e álcool polivinílico reduziu em 30% a solubilidade quando comparadas ao filme controle. Entretanto, os valores alcançados pelos autores ainda foram 5% superior ao obtido nesse trabalho.

De acordo com os resultados listados na tabela 8 a adição da NFC reduziu, significativamente, a PVA dos filmes de $1,55 \times 10^{-10} \text{ g m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$, filme de amido, para $1,14 \times 10^{-10} \text{ g m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$, filme de amido incorporado com 0,33% de reforço (formulação 3). Os menores valores de PVA para os filmes adicionados de NFC, podem ser devido ao tamanho nanométrico das partículas, que aumentam a razão entre a superfície e o volume, promovendo uma melhor dispersão das nanopartículas na matriz polimérica, formando uma rede de pontes de hidrogênio entre as cadeias de amido e de NFC. Esse arranjo forma um caminho mais tortuoso para a passagem das moléculas de água, diminuindo assim, sua difusão através do filme (BRAS et al., 2010, AZEREDO, 2009). Adicionalmente, a molécula de celulose é menos hidrofílica que a de amido, devido à sua cristalinidade e arranjo nanofibrilar. (CURVELO; DE CARVALHO; AGNELLI, 2001). Padrões similares de comportamento de PVA foram encontrados em outros trabalhos com filmes de amido adicionados de nanocelulose (CHANG et al., 2010, FAN et al., 2016). O tamanho da fibra, provavelmente

possibilita que ela ocupe espaços vazios realizando ligações de hidrogênio e com isso reduzindo a passagem do vapor de água.

Era esperado que o aumento da concentração utilizada reduzisse a PVA, porém esse comportamento não foi evidenciado provavelmente pela aglomeração das partículas entre si e em locais específicos deixando a matriz polimérica com espaço livre para a difusão da água. Quando comparados com filmes de amido reforçado com nanopartícula de amido (PVA igual a $3,04 \times 10^{-8} \text{ g m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$) (FAN et al., 2016) o filme apresentou um valor de PVA menor.

4.5 PROPRIEDADES ÓPTICAS

As propriedades ópticas dos filmes, transparência (T), os parâmetros de cor (L^* , a^* , b^*) e a variação global de cor (ΔE^*), estão apresentados na tabela 9. O estudo das propriedades ópticas nos filmes é importante para direcionar as suas possíveis aplicações como embalagem.

TABELA 9 - PARÂMETROS DE COR NA ESCALA CIELAB (L^* , a^* , b^*), VARIAÇÃO GLOBAL DE COR (ΔE^*) E TRANSPARÊNCIA (T) DOS FILMES.

Formulação	L^*	a^*	b^*	ΔE^*	Transp. (%)
Controle	$90,923^a \pm 0,161$	$-1,280^c \pm 0,04$	$1,366^c \pm 0,161$	$2,637^d \pm 0,158$	$86,800^a \pm 1,791$
1 (12g NFC)	$88,890^b \pm 0,548$	$-1,765^b \pm 0,04$	$5,439^b \pm 0,548$	$6,624^c \pm 0,777$	$42,933^b \pm 0,047$
2 (14g NFC)	$88,668^{bc} \pm 0,896$	$-1,754^b \pm 0,08$	$5,852^b \pm 0,896$	$7,073^{bc} \pm 1,236$	$40,466^b \pm 0,754$
3 (16g NFC)	$88,332^c \pm 0,673$	$-1,827^a \pm 0,04$	$6,362^a \pm 0,763$	$7,680^{ab} \pm 0,891$	$35,016^c \pm 1,060$
4 (18g NFC)	$88,253^c \pm 0,811$	$-1,837^a \pm 0,04$	$6,413^a \pm 0,811$	$7,774^a \pm 1,057$	$34,533^c \pm 1,979$

As médias \pm desvios-padrão seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente a um nível de significância de 5 %, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Os parâmetros de cor dos filmes foram influenciados pela adição de NFC na matriz polimérica. A incorporação da nanocelulose aos filmes influenciou significativamente os parâmetros analisados onde a luminosidade (L^*) e transparência (T) reduziram com o aumento do reforço, quando comparadas as formulações 1 e 2 com 3 e 4, enquanto o parâmetro croma (a^* e b^*) e diferença de cor (ΔE^*) aumentaram, quando comparados ao filme controle.

A transparência em filmes aplicados em embalagens é de grande importância, uma vez que os consumidores estão interessados na visualização das características do alimento embalado. A possível razão para que os filmes com reforços de nanocelulose tenham tido uma redução na transparência é devido à forte interação por pontes de hidrogênio entre as moléculas de nanocelulose, que podem aumentar a dispersão de luz (RODIONOVA et al., 2012). Ao preparar filmes de nanocelulose YANG et al., (2012) observou que a transparência dos filmes reduziu à medida que o percentual de nanocelulose aumentou, devido ao aumento das ligações de hidrogênio, que aumentaram as interações entre as partículas de nanocelulose. Embora, os filmes tenham apresentado transparência reduzida com a adição da NFC, estes filmes visualmente, apresentaram um padrão de transparência em que o produto embalado pode ser observado, conforme poder ser visualizado na figura 5. A figura 5 (a/b) mostra alfajores embalados em uma embalagem sintética convencional (polipropileno bio-orientado) e embalado no filme de formulação 3 (18,0 g de NFC)- desenvolvido nesse trabalho.

Os filmes com NFC, apresentaram uma coloração levemente amarelada, indicada pelo valor do parâmetro b^* , sendo a cor intensificada com o aumento do teor de NFC incorporada ao filme, o que causou também uma maior variação no parâmetro ΔE^* . A cor do filme está

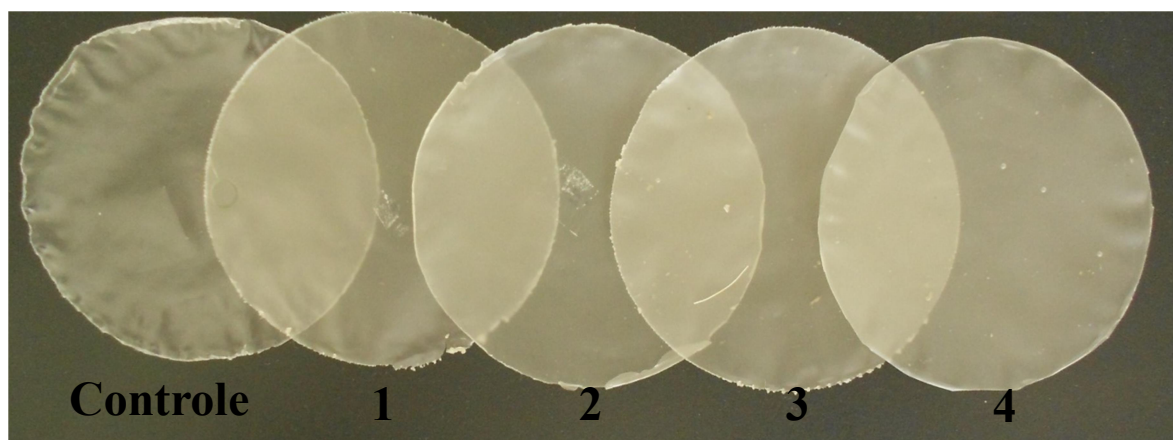
associada à cor da solução de nanocelulose utilizada, que apresentou parâmetro b^* igual a 7,442 valor relacionado com a coloração amarela. No entanto, visualmente essa coloração amarelada não foi perceptível conforme pode ser verificado na figura 6.

FIGURA 6 - (a) ALFAJOR EMBALADOS EM EMBALAGENS CONVENCIONAIS E (b) AIFAJOR EMBALADO NO FILME DE FORMULAÇÃO 3 DESENVOLVIDOS NESTE TRABALHO.



FONTE: O autor, 2017.

FIGURA 7- IMAGENS DOS FILMES DESENVOLVIDOS. FORMULAÇÕES: (CONTROLE) FILME SEM ADIÇÃO DE NFC; (1) – FILME COM 0,25% DE NFC; (2) – FILME COM 0,29% DE NFC; (3) – FILME COM 0,33% DE NFC; (4) – FILME COM 0,37% DE NFC



FONTE: O autor, 2017.

4.6 PROPRIEDADES MECÂNICAS

Os valores referentes às propriedades mecânicas (tensão e alongação) dos filmes estão expressos na Tabela 10.

TABELA 10 - PROPRIEDADES MECÂNICAS DOS FILMES: FORÇA DE TRAÇÃO (T) E ELASTICIDADE (E).

Formulação	Tensão (MPa)	ϵ^* (%)
Controle	$3,361^c \pm 0,343$	$212,490^a \pm 2,358$
1 (12, 0g NFC)	$6,417^b \pm 0,450$	$45,597^b \pm 7,163$
2 (14, 0g NFC)	$12,829^a \pm 0,420$	$6,971^c \pm 0,348$
3 (16, 0g NFC)	$13,668^a \pm 0,889$	$6,025^c \pm 2,832$
4 (18, 0g NFC)	$13,704^a \pm 0,811$	$4,950^c \pm 2,563$

As médias \pm desvios-padrão seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente a um nível de significância de 5 %, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Os materiais nanométricos são adicionados a matrizes poliméricas com o objetivo de atuar como um reforço para estes materiais, melhorando as propriedades de tensão e alongação. Entre as composições estudadas é possível observar que a formulação 4 (maior concentração de nanocelulose) apresentou a maior resistência à tração e a menor alongação, diferenciando-se estatisticamente da formulação controle e da formulação 1 (menor teor de NFC). Este comportamento demonstra que a adição de NFC nas concentrações estudadas foi suficiente para causar diferença significativa ($p < 0,05$) nestes parâmetros.

Além disso, a incorporação da NFC em pequenas quantidades é capaz de provocar alteração considerável nas propriedades de tensão e alongação dos filmes, conforme pode ser observado neste trabalho. A formulação 1 (menor concentração de NFC) apresentou uma força de tensão aumentada em 90% e redução de 78% da alongação quando comparada ao

filme controle. Com isso, observa-se que uma baixa concentração de NFC (0,12g/100g de solução filmogênica) proporciona um aumento de aproximadamente 113% na força de tensão, quando comparados os filmes 1 (6,42 Mpa) e 4 (13,70 Mpa), justificando sua utilização como reforço em matrizes poliméricas à base de amido de mandioca. Com a aplicação de 0,29% (filme 2) ou 0,33% (filme 3) de nanocelulose, foi possível obter propriedades semelhantes à concentração máxima estudada (0,37%, filme 4), indicando que as propriedades mecânicas podem ser consideravelmente melhoradas já na formulação 2.

Como era de se esperar, houve redução na elongação com o aumento da concentração do reforço na matriz polimérica, o que por consequência resulta na formação de filmes mais rígidos. Em geral, a literatura aponta que a adição de nanopartículas em filmes de amido de mandioca aumenta a resistência à tração e reduz a elasticidade, (CHANG et al., 2010b; GUIMARÃES et al., 2015; TEODORO et al., 2015; FAN et al., 2016b), o mesmo comportamento encontrado neste trabalho. Por outro lado, os valores obtidos para resistência à tração foram muito superiores aos obtidos por AILA-SUÁREZ et al., (2013), que mesmo com uma concentração máxima de 1.2% de nanocelulose em filmes de amido de batata, obtiveram uma resistência à tração de apenas 1.1 Mpa.

Essas novas características apresentadas pelos filmes provavelmente podem estar relacionadas com a força entre as ligações entre os grupos O-H da superfície das nanofibrilas com os mesmos grupos O-H dos componentes da matriz polimérica (amido) e também pela relação superfície/volume da nanopartícula, o que promove uma melhor dispersão destas na matriz polimérica. A rigidez da celulose pode estar relacionada com aumento dessa força de tensão também.

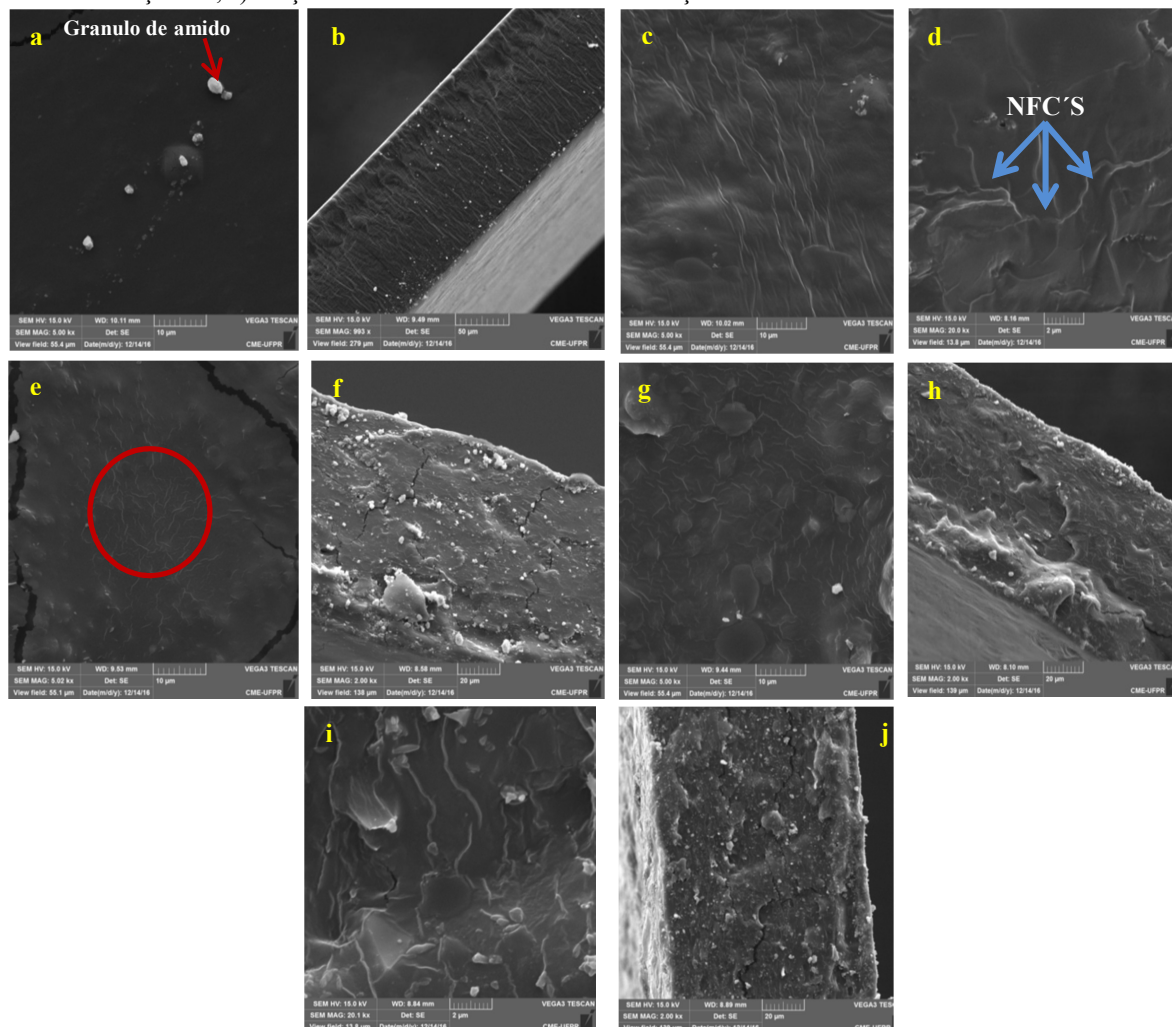
4.7 CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DOS FILMES

Na figura 8 é possível visualizar a superfície e secção transversal dos filmes, incorporados de NFC e sem a adição. É possível perceber diferença entre os filmes adicionados de nanofibrila de celulose e sem adição desta. O filme incorporado demonstra a superfície aparentemente rugosa, devido à presença das nanopartículas orientadas de formas diversas. Porém, essa rugosidade não é percebida visualmente nos filmes em tamanho real. É possível notar que elas se dispersam na matriz polimérica e se apresentam em vários comprimentos e espessuras, o mesmo observado na imagem da caracterização da NFC (figura 4 a/b). No entanto, em algumas formulações (4 e 2) as quais a dispersão das nanofibrilas não foi tão homogênea ocorreu um aglomerado (indicado na figura 8 por um

círculo vermelho) destas em alguns pontos do filme e que possivelmente interagiram entre si. Quando a dispersão e organização das NFC ocorreu em toda a matriz (Figura 8d) , o filme não apresentou rachaduras provocadas pelo processo de secagem durante o preparo da amostra, mostrando-se uma estrutura mais estável. Este comportamento é explicado, provavelmente, pela interação forte entre as hidroxilas livres presentes na superfície da NFC e os demais componentes da matriz polimérica. Por fim, em todas as imagens estão presentes pontos globulares brancos (sinalizados por setas vermelhas) que são atribuídos aos grânulos de amido não gelatinizados dispersos pela matriz polimérica.

A dispersão uniforme das nanofibrilas no filme da formulação 3 (figura 8g), provavelmente, proporcionou a ela o menor valor de PVA, valores de tensão bem próximos ao da maior concentração e a menor atividade de água evidenciando a relação da água com a matriz polimérica e seu estado de ligação. Um comportamento similar foi observado por TEODORO et al., (2015) em filmes de amido de mandioca contendo nanopartículas de amido acetilado.

FIGURA 8- MICROGRAFIAS OBTIDAS DA SUPERFÍCIE E SEÇÃO TRANSVERSAL DOS FILMES ESTUDADOS. A) SUPERFÍCIE FORMULAÇÃO CONTROLE, B) SEÇÃO TRANSVERSAL FORMULAÇÃO CONTROLE, C) SUPERFÍCIE FORMULAÇÃO 1, D) SEÇÃO TRANSVERSAL FORMULAÇÃO 1, E) SUPERFÍCIE FORMULAÇÃO 2, F) SEÇÃO TRANSVERSAL FORMULAÇÃO 2, G) SUPERFÍCIE FORMULAÇÃO 3, H) SEÇÃO TRANSVERSAL FORMULAÇÃO 3, I) SUPERFÍCIE FORMULAÇÃO 4, J) SEÇÃO TRANSVERSAL FORMULAÇÃO 4.



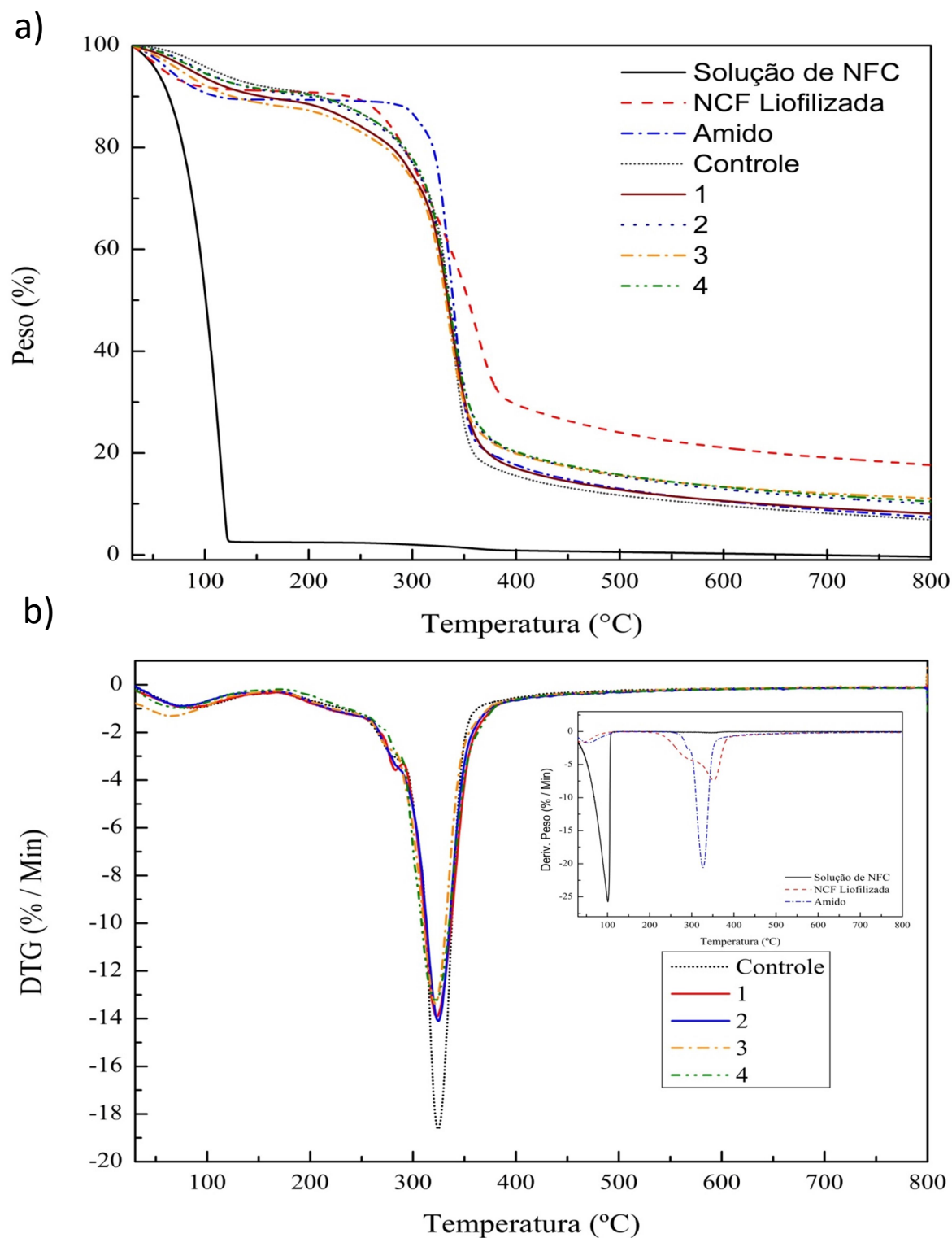
Fonte: O autor, 2017.

4.8 PROPRIEDADES TÉRMICAS

A estabilidade térmica dos filmes foi avaliada através da análise termogravimétrica (TGA) e as respectivas temperaturas de decomposição foram calculadas através da derivada das curvas de TGA. Além das curvas de degradação dos filmes também estão presentes as curvas de degradação dos componentes puros: solução de NFC, o amido e a NFC liofilizada, a fim de identificar a origem das diferentes etapas de degradação nos filmes.

O efeito da adição de NFC sobre a estabilidade dos filmes pode ser visualizado na figura 9 (a/b).

Figura 9- a) Curvas de degradação térmica dos filmes: Formulação Controle, Formulação 1, Formulação 2, Formulação 3 e Formulação 4; e b) Curvas DTG.



Como pode ser visto na Figura 9 a degradação dos filmes ocorreu em 3 etapas, a primeira correspondente a evaporação da água em temperatura de até 110 °C, a segunda na

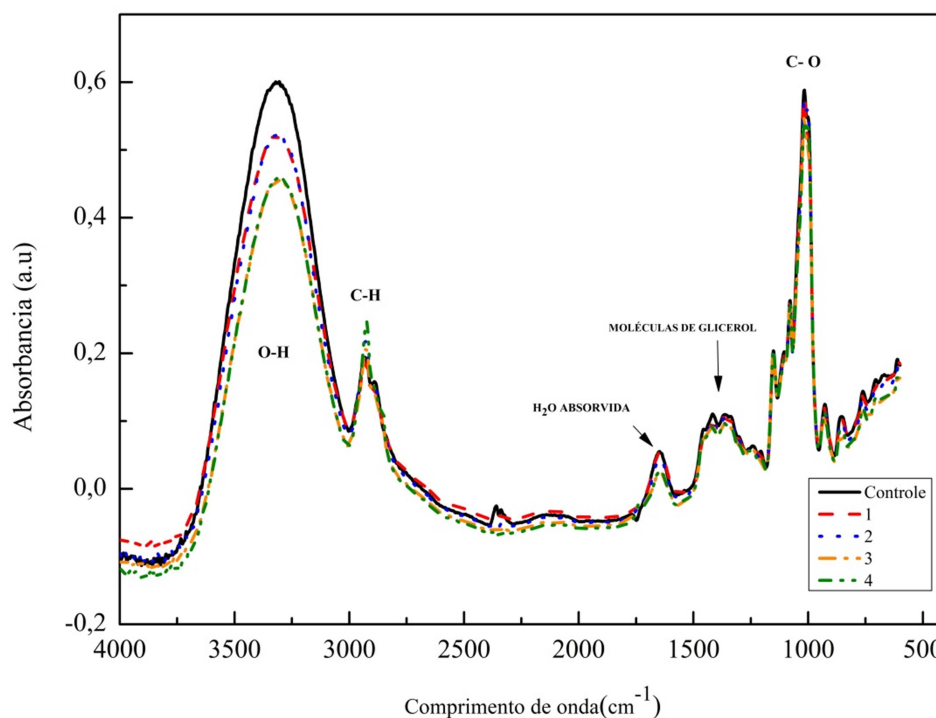
faixa de 180 °C – 276 °C que pode ser atribuída a fase do filme rica em glicerol, uma vez que sua temperatura de degradação está entre 120 °C a 280 °C relatada por Montero et al., (2016). E a última etapa está relacionada a degradação do amido e NFC onde a faixa de temperatura foi de 300°C a 410°C, na qual foi observada a maior perda de massa. Adicionalmente, a degradação do amido puro iniciou-se na temperatura de 300 °C com degradação máxima em 326 °C e a nanofibrila de celulose liofilizada teve temperatura inicial de degradação em 307 °C e máxima em 351 °C. Entretanto, a degradação da nanofibrila em solução, usada neste trabalho, teve sua maior perda relacionada a água devido apresentar aproximadamente 98% de umidade e a etapa correspondente a degradação da celulose esteve na temperatura inicial de 336 °C com perda máxima de massa em 357,98 °C. Essa diferença nas temperaturas (inicial e máxima), possivelmente, deve-se ao fato da nanofibrila de celulose se encontrar em solução elevando assim as temperaturas de degradação quando comparada com a NFC liofilizada.

A adição de NFC a matriz polimérica não provocou efeito na estabilidade térmica dos filmes conforme pode ser observado nas Figuras 9 (a e b), exceto para a formulação 2 que apresentou um aumento de 6 °C na temperatura máxima de degradação com isso se apresentando como o filme mais estável. As demais formulações apresentaram temperaturas de pico bem próximas (324 °C – 325 °C) e está relacionada a degradação da fase rica em amido. No entanto, a massa residual a 800 °C foi maior conforme o aumento da concentração de NFC adicionada aos filmes. Segundo Staggs, (2006) esse aumento de massa residual pode ser devido ao tamanho da partícula que pelo seu tamanho reduzido, apresenta um grande número de cadeias livres em sua extremidade e com isso ocasiona a decomposição em temperaturas mais baixas aumentando assim o rendimento do resíduo final. O mesmo comportamento foi observado no trabalho de Fortunati et al., (2016).

4.9 INTERAÇÃO E COMPATIBILIDADE ENTRE OS COMPONENTES (FTIR)

Em geral, os filmes apresentaram comportamento similar quando submetidos à análise de FTIR, conforme pode ser observado na Figura 10.

FIGURA 10-ESPECTRO ATR/FTIR DOS FILMES DESENVOLVIDOS: FORMULAÇÃO CONTROLE, 1, 2, 3 E 4.



FONTE: O autor, 2017.

No entanto, foram evidenciadas reduções na amplitude dos picos, em determinadas regiões, conforme o aumento da concentração de NFC incorporada à matriz polimérica. Segundo Hesse; Meier; Zeeh, (2005), quanto menor a frequência obtida, maior é a força das ligações de hidrogênio existente. Adicionalmente, Jaramillo et al., (2016) atribuíram a intensidade da banda à quantidade de grupos OH existente para realizar ligações, sendo menor a intensidade e largura do pico quanto mais ligações formarem e quanto mais grupos estiverem disponíveis para vibrarem.

Todas as formulações dos filmes apresentaram espectros em bandas características: a) 3344 cm^{-1} a 3355 cm^{-1} , faixa atribuída ao estiramento dos grupos O-H presentes nas moléculas de amido, água, nanofibrila e glicerol; b) 2908 cm^{-1} a 2933 cm^{-1} , faixa atribuída ao estiramento do grupo C-H dos aldeídos presentes na matriz polimérica; c) 1654 cm^{-1} a 1662 cm^{-1} , faixa atribuída à água absorvida pelas moléculas de amido; d) 1423 cm^{-1} , atribuído às moléculas de glicerol; e e) 1016 cm^{-1} a 1020 cm^{-1} , faixa atribuída ao estiramento de C-O (SELIGRA et al., 2016, MENDES et al., 2016, JARAMILLO et al., 2016).

Os picos atribuídos aos grupos hidroxilas (3344 a 3355 cm^{-1}) apresentaram redução na intensidade conforme a concentração de nanofibrila foi aumentada. Uma provável causa deste comportamento para a redução dos grupos OH é o aumento da formação de crosslink entre o CNF e as cadeias de amido, intermediado por moléculas de glicerol livres. Quando tais

ligações são formadas, não apenas as cadeias de polissacarídeos, mas também as moléculas de glicerol, perdem grupos hidroxílicos para o meio, na forma de água. À medida que esta água é evaporada no processo de secagem, a quantidade de grupos livres de OH seria menor no filme formado, justificando os resultados encontrados. Por fim, é possível inferir através dos espectros obtidos que a incorporação da NFC à matriz polimérica foi grande o suficiente para realizar alterações nos espectros na região 3300 cm^{-1} .

4.10 CONSIDERAÇÕES GERAIS FILMES ATIVOS

Conforme mencionado no início do trabalho os filmes ativos foram produzidos a partir da incorporação de óleo essencial de cravo (OEC) e Sorbato de Potássio (SP) a formulação que apresentasse os melhores resultados de PVA e propriedades mecânicas. Para a maioria das análises a formulação 3 e 4 não apresentaram diferença entre elas. No entanto, por ter apresentado uma dispersão das fibras mais uniforme, visualizadas através das imagens do MEV (Figura 7g), a formulação 3 (0,3%) foi selecionada como a formulação padrão para a segunda fase da pesquisa.

As concentrações de OEC e SP foram selecionadas a partir da inibição apresentada pelos filmes desenvolvidos.

4.11 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS FILMES ATIVOS

Na Tabela 11 encontram se listados os valores dos halos de inibição obtidos a partir dos filmes de papel estéreis impregnados de OEC em diferentes concentrações. E na Tabela 12 estão expressos a porcentagem de inibição apresentada para cada concentração. Assim como, na figura 11 (a/b/c/d/e) podem ser visualizados os respectivos halos de inibição obtidos. Por meio dos resultados é possível perceber que todas as concentrações provocaram inibição contra os microrganismos testados, no entanto houve melhor ação contra os microrganismos: *Bacillus cereus* e *Staphylococcus aureus*, os quais exibiram maiores halos de inibição e maior porcentagem de inibição. Todas as concentrações apresentaram halos de inibição iguais, ($p < 0,05$), contra o crescimento do *Bacillus cereus* e *Escherichia coli*. Já para a *Salmonella choleraesuis*, a inibição apresentada pelas duas maiores concentrações (0,008 ml e 0,007 ml) foram iguais entre si e o mesmo ocorreu com as duas menores concentrações (0,006 ml e 0,005 ml). Enquanto, a inibição exibida pelo *Staphylococcus aureus* foi distinta ($p < 0,05$) apenas para a menor concentração de óleo utilizada. Já os filmes sem impregnação de óleo essencial (controle negativo) não apresentaram a formação de nenhum tipo de inibição como era esperado.

Como o OEC apresentou inibição em todas as concentrações utilizadas e considerando que ainda seria utilizado outro antimicrobiano, a menor concentração foi escolhida para incorporação aos filmes ativos.

TABELA 11 - HALO DE INIBIÇÃO (MM) OBTIDO ATRAVÉS DA IMPREGNAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE CRAVO EM FILME DE PAPEL ESTÉRIL DE 20 MM DE DIÂMETRO.

Volume impregnado	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Salmonella Choleraesuis</i>	<i>Escherichia Coli</i>
0,008 ml	13,2 ^a ± 1,30	5,8 ^a ± 0,84	5,0 ^a ± 1,00	4,0 ^a ± 1,00
0,007 ml	13,0 ^a ± 1,22	5,4 ^a ± 0,54	4,6 ^a ± 0,54	5,6 ^a ± 0,54
0,006 ml	12,4 ^a ± 1,81	5,4 ^a ± 0,55	2,6 ^b ± 0,89	5,0 ^a ± 1,22
0,005 ml	13,2 ^a ± 1,48	3,2 ^b ± 0,84	2,2 ^b ± 0,84	4,2 ^a ± 0,84
0,000 ml	Sem inibição	Sem Inibição	Sem Inibição	Sem Inibição

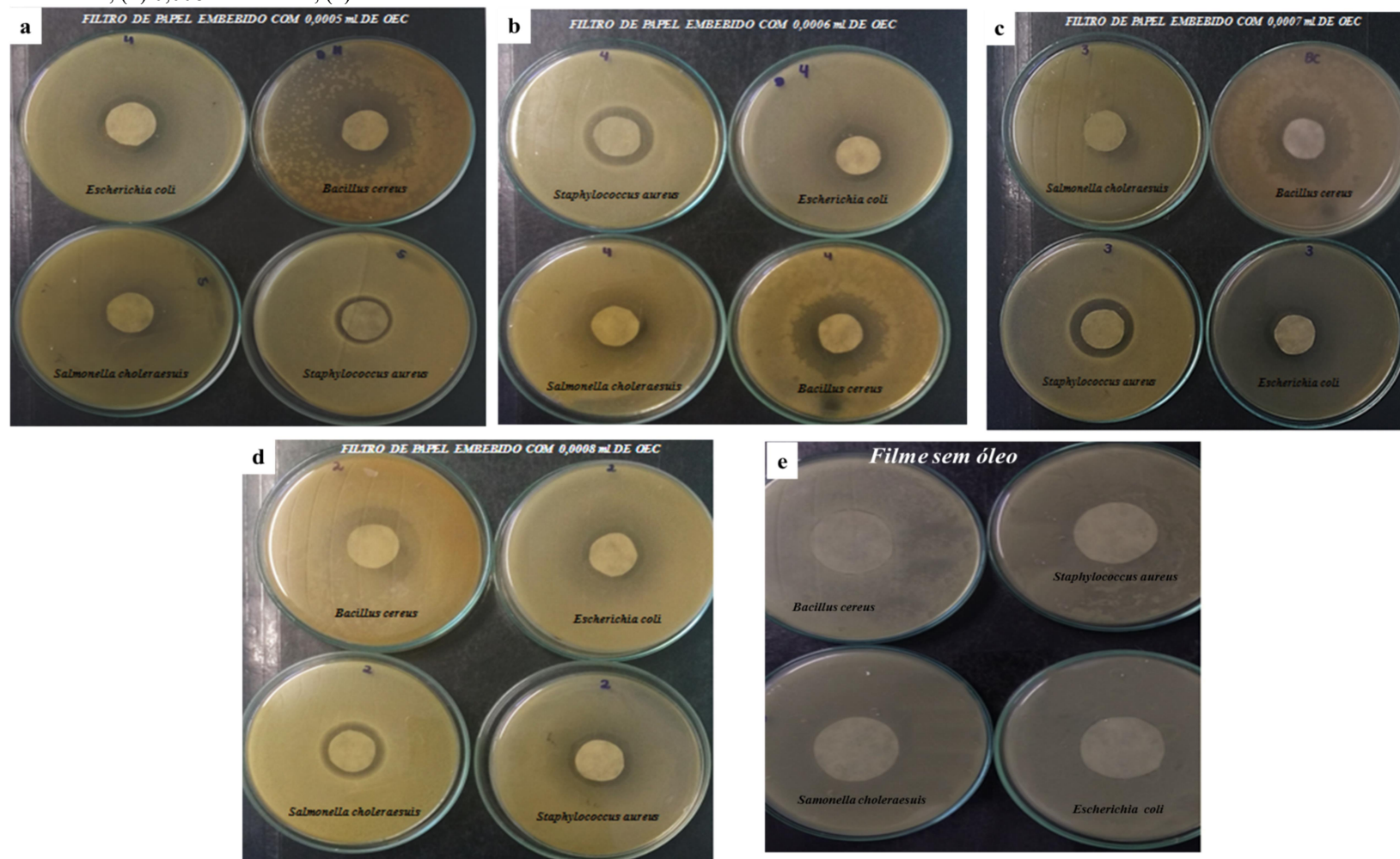
FONTE: O autor, 2017

TABELA 12 - PORCENTAGEM DE INIBIÇÃO (%) OBTIDO ATRAVÉS DA IMPREGNAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE CRAVO EM FILME DE PAPEL ESTÉRIL DE 20 MM DE DIÂMETRO.

Volume impregnado	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Salmonella Choleraesuis</i>	<i>Escherichia Coli</i>
0,008 ml	26,647 ^a ± 3,015	12,355 ^a ± 1,316	11,150 ^a ± 1,482	9,718 ^a ± 1,383
0,007 ml	26,182 ^a ± 2,843	11,723 ^a ± 0,838	10,538 ^a ± 0,784	12,029 ^a ± 0,838
0,006 ml	24,909 ^a ± 4,048	11,723 ^a ± 0,838	7,872 ^b ± 1,143	11,170 ^a ± 1,876
0,005 ml	24,425 ^a ± 3,218	8,632 ^b ± 1,080	7,378 ^b ± 0,998	9,985 ^a ± 1,163
0,000 ml	Sem inibição	Sem Inibição	Sem Inibição	Sem Inibição

FONTE: O autor, 2017.

Figura 11 - - INIBIÇÕES APRESENTADAS PARA DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE ÓLEO ESSENCIAL: (a) 0,005 ML DE ÓEC; (b) 0,006 ml de OEC; (c) 0,007 ml de OEC; (d) 0,008 ml de OEC; (e) CONTROLE POSITIVO.



Fonte: O autor, 2017.

A Tabela 13 e 14 apresentam os halos de inibição obtidos dos filmes ativos e a porcentagem de inibição exibida pela área da placa, respectivamente. E a Figura 12 estão apresentadas imagens da atividade antimicrobiana apresentada pelo filmes.

TABELA 13 - HALO DE INIBIÇÃO (MM) OBTIDO A PARTIR DOS FILMES (30 MM DE DIÂMETRO) INCORPORADOS DE ÓLEO ESSENCIAL DE CRAVO E SORBATO DE POTÁSSIO.

Formulação	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Salmonella Choleraesuis</i>	<i>Escherichia Coli</i>
1S	Sem inibição	8,2 ^b ± 1,78	Sem inibição	Sem inibição
2D	9,0 ^b ± 1,0	10,2 ^{ab} ± 1,0	3,8 ^a ± 1,64	2,6 ^a ± 0,55
3F	11,6 ^a ± 1,14	11,0 ^a ± 0,84	4,2 ^a ± 0,84	2,4 ^a ± 0,55

Fonte: O autor, 2017

TABELA 14 - PORCENTAGEM DE INIBIÇÃO (%) OBTIDO A PARTIR DOS FILMES (30 MM DE DIÂMETRO) INCORPORADOS DE ÓLEO ESSENCIAL DE CRAVO E SORBATO DE POTÁSSIO.

Formulação	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Salmonella Choleraesuis</i>	<i>Escherichia Coli</i>
1S	Sem inibição	26,706 ^b ± 4,095	Sem inibição	Sem inibição
2D	28,483 ^b ± 2,37	33,422 ^a ± 2,568	17,560 ^a ± 3,094	14,963 ^a ± 0,947
3F	34,992 ^a ± 2,98	31,388 ^{ab} ± 2,072	18,232 ^a ± 1,576	15,309 ^a ± 0,947

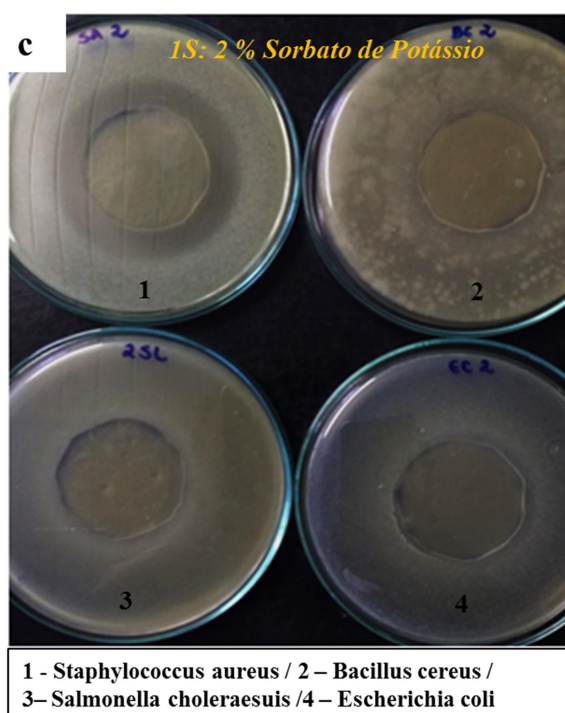
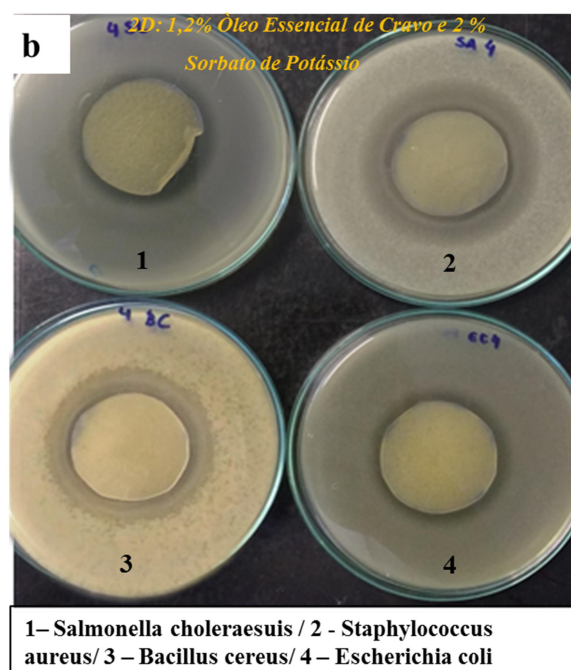
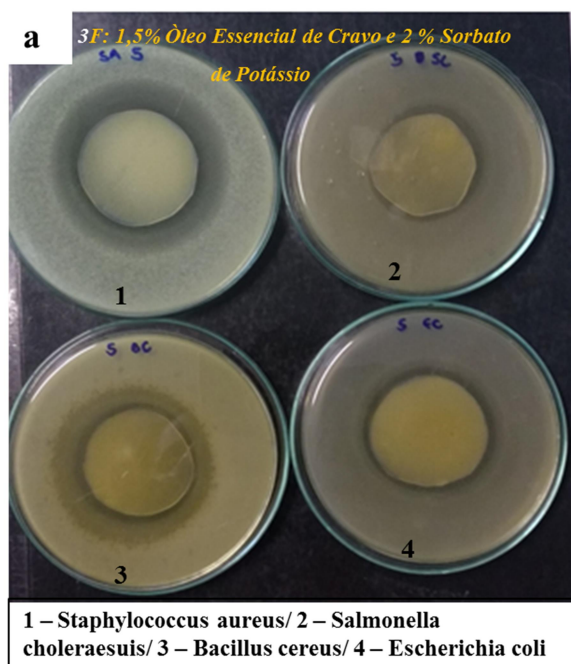
Fonte: O autor, 2017.

A partir dos resultados pode se inferir que a formulação 1S apresentou inibição efetiva somente para o microrganismo *Staphylococcus aureus*. Quando associados os dois antimicrobianos: sorbato de potássio com diferentes concentrações de óleo essencial, a formulação com maior teor de OEC mostrou maior eficiência contra o *Bacillus cereus* e *Staphylococcus aureus* o mesmo comportamento apresentado pelos discos embebidos com o óleo puro. As bactérias gran – negativas, *Salmonella choleraesius* e *Escherichia coli*, apresentaram maior resistência contra ação do OEC. Essa resistência está relacionada a natureza lipossacarídica das bactérias gran-negativas, que protege a membrana citoplasmática de ser atingida por compostos ativos (OUATTARA et al., 1997). A porcentagem de inibição apresentada para esses dois microrganismos, também foi baixa quando comparadas com as inibições apresentadas em bactérias gran-negativas no trabalho de Echeverría et al., (2016). Já a porcentagem de inibição apresentada para as bactérias gran positivas, *Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus*, foi superior a encontrada pelo mesmo autor (24% e 29%, respectivamente), em filmes de proteína de soja e óleo essencial de cravo, poli láctico e montimorilonita. Segundo os autores outros fatores tais como, composição da matriz polimérica, tipo e concentração do óleo, podem influenciar na eficiência de inibição apresentada pelos óleos essenciais.

Shen et al., (2010) estudando as propriedades físicas e antimicrobianas de filmes de amido de batata doce incorporados com sorbato de potássio ou quitosana, em concentrações de 10% de SP não obtiveram inibição contra *Escherichia coli*. Para os autores isto ocorreu devido a interação do grupo carboxila do sorbato de potássio com os grupos OH do amido, reduzindo assim a sua liberação e consequente inibição dos microrganismos. O que pode explicar a formulação 1S (2,0% de SP) não ter apresentando atividade antimicrobiana. E diferente do encontrado neste trabalho o SP não apresentou inibição contra o *Staphylococcus aureus* em nenhuma concentração estudada (5 e 15%), provavelmente pela tipo de matriz polimérica e a interação realizada com o SP.

A porcentagem de inibição apresentada pelos filmes incorporados de SP e OEC (formulação 2D e 3F) foi expressiva, porém a concentração utilizada limita a aplicação e utilização dos filmes para embalagem de qualquer produto, uma vez que pode haver a descaracterização devido ao forte aroma do cravo. Sendo assim, o filme seria indicado para aplicação em produtos em que levasse cravo em sua formulação tais como pães de mel, beijinho, pães doce, bolo de fubá entre outros. Já o filme incorporado apenas de SP (filme 1S) por ter apresentando inibição apenas para o *Staphylococcus aureus* seu emprego estaria limitado a alimentos com maior propensão para o crescimento destes microrganismos ou ser associado a outros agentes antimicrobianos.

FIGURA 12 - IMAGENS REPRESENTATIVAS DOS HALOS DE INIBIÇÃO APRESENTADO PELOS FILMES. a) FORMULAÇÃO 3F; b) FORMULAÇÃO 2D E c) FORMULAÇÃO 1S.



Fonte: O autor, 2017.

4.12 CARACTERIZAÇÃO FÍSICA DOS FILMES ATIVOS

Na tabela 15 são apresentados os dados da caracterização física dos filmes ativos. Nela estão contidos os dados de espessura, umidade, atividade de água, solubilidade e permeabilidade ao vapor de água.

TABELA 15- CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES ATIVOS APÓS 7 DIAS EM DESSECADOR COM UMIDADE E TEMPERATURA CONTROLADA (58% , 25 °C): ESPESSURA (E), UMIDADE (U), ATIVIDADE DE ÁGUA (AW) , SOLUBILIDADE (S) E PERMEABILIDADE AO VAPOR DA ÁGUA (PVA).

Formulação	E (mm)	U (%)	Aw	S (%)	PVA (g m ⁻¹ s ⁻¹ Pa ⁻¹) X 10 ⁻¹⁰
Controle	0,121 ^c ± 0,002	11,703 ^c ± 0,02	0,517 ^d ± 0,008	16,894 ^c ± 0,205	1,14 ^b ± 0,214
1S	0,189 ^b ± 0,016	15,00 ^a ± 0,97	0,576 ^b ± 0,013	48,484 ^b ± 1,09	2,12 ^a ± 0,660
2D	0,232 ^a ± 0,028	13,81 ^b ± 0,52	0,599 ^{cd} ± 0,010	51,672 ^a ± 3,10	1,83 ^a ± 0,289
3F	0,230 ^a ± 0,010	13,72 ^b ± 0,13	0,622 ^{cd} ± 0,014	50,645 ^{ab} ± 1,18	1,16 ^b ± 0,171

As médias ± desvios-padrão seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente a um nível de significância de 5 %, pelo teste de Tukey (p < 0,05).

Os filmes ativos desenvolvidos apresentaram a espessura variando de 0,189 mm ± 0,016 a 0,232 mm ± 0,010, com diferença significativa (p < 0,05) quando comparados o filme controle e os filmes adicionados de OEC e sorbato de potássio. Embora, a gramatura utilizada nos suportes durante o processo de produção dos filmes tenha sido mantida igual para todas as formulações é possível notar um aumento de 56% na espessura do filme incorporado apenas de sorbato (1S) ao ser comparado com o filme controle. E aumento de cerca de 91% na espessura dos filmes 2D e 3F também quando comparados ao controle. Este aumento na espessura pode ser atribuído ao teor de sólidos existente na solução que foi aumentado pela presença do sorbato de potássio e pela presença do OEC. Um comportamento similar ocorreu no trabalho de ECHEVERRÍA et al., (2016) onde a adição de OEC em matriz polimérica de proteína isolada de soja e nanoargila, provocou o aumento de até 35% na espessura dos filmes. No trabalho de AHMED; HIREMATH; JACOB, (2016), a presença do óleo essencial de cravo também aumentou a espessura dos filmes. E segundo os autores a interação e a ligação física entre o óleo e a matriz plastificada é um fator que pode influenciar no aumento da espessura de filmes adicionados de óleo. Neste trabalho o teor de sólidos não foi padronizado, para que não causasse influência na atividade antimicrobiana.

Da mesma forma, a umidade dos filmes ativos aumentou em relação ao controle sendo que o filme adicionado apenas de SP apresentou a maior umidade (13,75%). Uma tendência semelhante foi verificada no trabalho de FAMÁ et al., (2006) no qual, o conteúdo de umidade em filmes de amido incorporados com SP aumentou em cerca de 79% quando 0,3g/100g de SP foi adicionado na composição da matriz polimérica. A redução foi atribuída a redução da

fração cristalina pelo incremento do SP. O teor de umidade encontrada neste trabalho foi semelhante ao obtido (teor de umidade entre 13 e 15%) por FLORES et al., (2010) em seu trabalho de filmes extrusados: de amido, glicerol, goma xantana e SP. Os autores propuseram que este aumento foi devido a modificação da estrutura da rede de amido pelo SP o que proporcionou maior interação entre água e grupos OH da cadeia de amido.

A atividade de água também aumentou conforme a concentração do óleo foi aumentada, apresentando diferença significativa ($p < 0,05$) entre os filmes ativos e o controle. O filme com maior concentrações de óleo apresentou a maior atividade de água, diferentemente do observado no trabalho de AHMED; HIREMATH; JACOB, (2016), no qual a presença do óleo manteve inalterada a atividade de água dos filmes. Provavelmente o óleo associado ao sorbato tenha realizado influência sobre essa propriedade, uma vez que o SP é solúvel em água.

A solubilidade foi um dos parâmetros mais afetados pela presença do OEC e o SP, apresentando aumento de aproximadamente 186% na solubilidade quando comparados os filmes ativos com o filme controle. Embora, o óleo possua caráter hidrofóbico e com isso fosse esperado uma redução na solubilidade, esse comportamento não foi observado provavelmente pela presença do SP e sua solubilidade em água. FLORES et al., (2007a) testando diferentes métodos de obtenção de filme de amido de mandioca, com e sem SP, também obteve filmes com solubilidade elevadas na presença do SP. No entanto, a solubilidade encontrada (32,6%) foi inferior a alcançada nesse trabalho (50,6%) para a formulação com mais teor de OEC (3F). O aumento da solubilidade foi atribuído a produção de uma rede mais desorganizada devido a presença do SP. Já no trabalho de FLORES et al., (2010) a solubilidade dos filmes foi bem próxima a encontrada nesse trabalho (50%) com algumas formulações apresentando valores superiores a este trabalho (64%).

A formulação composta apenas de SP (1S) apresentou a PVA superior ao controle não diferindo estatisticamente ($p < 0,05$) da formulação com a menor composição de óleo (2D). Já a formulação com a maior concentração de OEC (1,5%) apresentou a mesma PVA que o filme controle. Evidenciando que a presença dos antimicrobianos não alteraram a PVA dos filmes quando a maior concentração de óleo é utilizada. Embora, os valores de PVA de algumas formulações tenham sido superiores ao filme controle, os resultados obtidos foram inferiores aos encontrados no trabalho de FLORES et al., (2010) que em filmes de amido de mandioca, goma xantana e sorbato de potássio (produzidos por processo de extrusão), encontraram valores de PVA variando de $3,7$ a $6,7 \times 10^{-10}$.

O aumento de cerca de 80% e 60% na PVA dos filmes 1S e 2D, respectivamente, pode ter ocorrido pelo aumento de grupos hidrofílicos polares na matriz polimérica. E pela alteração estrutural que pode ocorrer na rede de amido quando o SP está presente. Além do mais, os filmes de amido adicionados de SP são mais quebradiços facilitando a permeação ao vapor de água (SHEN et al., 2010; BARZEGAR et al., 2014). Apesar de sua natureza hidrofóbica a presença do OEC não alterou a PVA dos filmes quando este foi utilizado em maior concentração. Segundo ECHEVERRÍA et al., (2016) este efeito provavelmente ocorre pela boa dispersão do OEC na matriz polimérica, uma vez que os óleos quando em fases contínuas apresentam efetiva barreira ao vapor de água. Provavelmente, o OEC na presença do SP conseguiu se dispersar melhor na matriz polimérica mantendo a PVA igual ao filme controle.

BERTAN, (2008) observou que a adição de SP em filmes de gelatina, glúten e amido provocou aumento de até 270% na PVA dos filmes constatando que o SP atuou como plastificante. E conseqüentemente aumentando a PVA dos filmes.

4.13 PROPRIEDADES ÓPTICAS DOS FILMES ATIVOS

A Tabela 16 mostra os valores de L^* , a^* , b^* a variação global ΔE de cor e a transparência dos filmes ativos.

TABELA 16 - PARÂMETROS DE COR NA ESCALA CIELAB (L^* , A^* , B^*), VARIAÇÃO GLOBAL DE COR (ΔE^*) E TRANSPARÊNCIA (T) DOS FILMES ATIVOS.

Formulação	L^*	a^*	b^*	ΔE^*	Transp. (%)
Controle	$88,332^a \pm 0,673$	$-1,872^a \pm 0,040$	$6,362^d \pm 0,763$	$7,680^d \pm 0,891$	$35,016^b \pm 1,060$
1S	$84,775^b \pm 0,420$	$-0,700^b \pm 0,190$	$12,039^c \pm 0,907$	$14,226^c \pm 0,949$	$52,817^a \pm 5,068$
2D	$79,392^c \pm 0,727$	$-0,862^b \pm 0,156$	$25,306^b \pm 2,130$	$28,284^b \pm 1,236$	$5,598^c \pm 0,176$
3F	$77,893^d \pm 0,968$	$-0,656^a \pm 0,449$	$29,103^b \pm 0,583$	$32,346^a \pm 0,567$	$2,492^c \pm 0,346$

As médias \pm desvios-padrão seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente a um nível de significância de 5 %, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

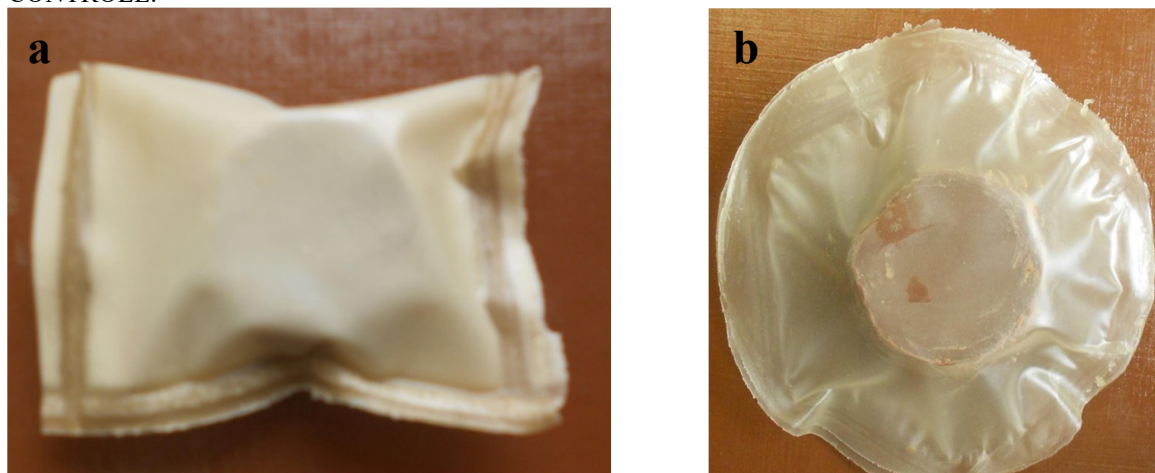
A partir da tabela 16 pode ser verificado que a presença tanto do SP quanto do OEC tiveram influência direta na coloração e na transparência dos filmes. O aumento da concentração do óleo reduziu a transparência e a presença do SP aumentou a transparência dos filmes, na ausência do óleo. Os filmes tenderam para a coloração amarela conforme a concentração de óleo foi maior, não havendo diferença ($p < 0,05$) entre as duas formulações com conteúdos distintos de óleo. O SP também influenciou na coloração final dos filmes, sendo que o filme composto apenas de SP teve sua cor amarela intensificada quando comparadas com o controle. O OEC por ser um composto de coloração amarela influencia diretamente na coloração do filme dependendo da concentração utilizada. Neste trabalho as concentrações de óleo utilizadas foram suficientes para aumentar significativamente o

parâmetro b^* , relacionado a cor amarela. Visualmente, conforme pode ser observado na figura 14, é possível perceber a tendência do filme para a coloração amarela e a redução da transparência. Comportamento similar foi encontrado no trabalho de Ahmed; Hiremath; Jacob, (2016) em que a presença do OEC na matriz polimérica de polilático (PLA) alterou a coloração do filme para amarelo e os autores também atribuíram a coloração amarelada dos pigmentos presentes no OEC. O mesmo foi observado no trabalho de Mulla et al., (2016) em que tanto a cor como a transparência dos filmes reduziram com incorporação do OEC na matriz polimérica de polietileno de baixa densidade. A presença do SP em filmes também foi levantando como um possível alterador na coloração por outros autores (BARZEGAR et al., 2014; FAMÁ et al., 2006)

A transparência foi diretamente influenciada pela presença do OEC associado ao SP. Avaliando a formulação 1S (incorporada apenas de SP) pode ser verificado que o SP melhora a transparência dos filmes aumentando em aproximadamente 48% o valor da transparência quando comparado com o filme controle. Quando associados os dois antimicrobianos a transparência dos filmes (2D e 3F) se tornaram cerca de 92% inferior ao filme controle e 95% ao filme 1S (incorporado apenas de sorbato). É possível perceber a baixa transparência do filme a partir da Figura 13(a) que mostra um alfajor embalado no filme 3F. A baixa transparência é um ponto considerado positivo quando se pensa em conservação de alguns produtos, pois pode limitar a passagem de luz reduzindo assim a oxidação. Porém, é um fator que pode ser negativo do ponto de vista do consumidor, uma vez que o produto não pode ser visualizado, não sendo assim um atrativo para a compra. Na Figura 13 (b), quando o filme controle é utilizado como embalagem do alfajor, é possível visualizar o produto embalado. A diferença entre os filmes é visualmente percebida, conforme pode ser visualizado na Figura 13 (a/b).

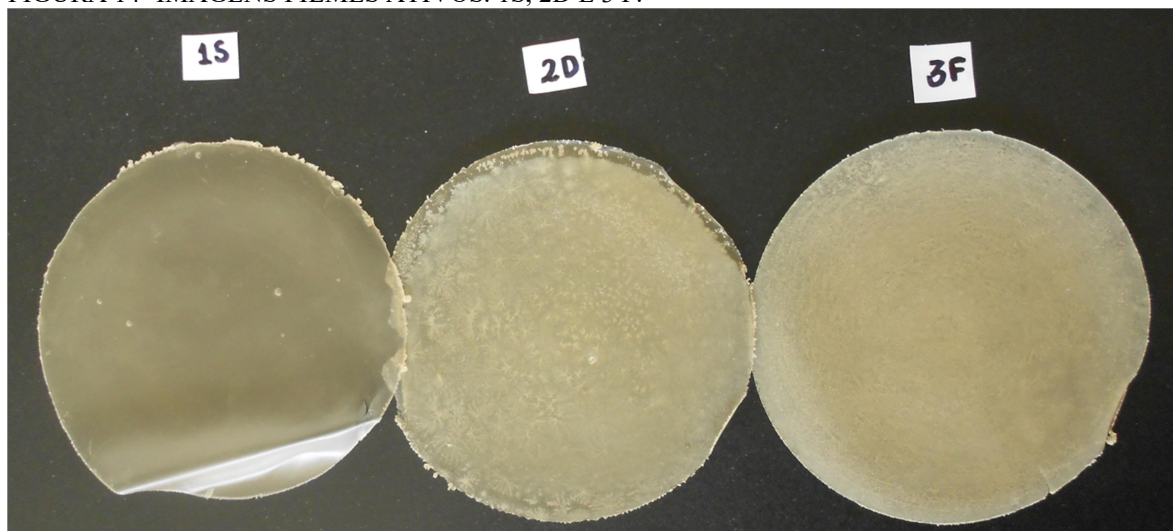
Os filmes ativos obtidos, tiveram uma coloração amarelada bem acentuada (Figura 14). Conforme relatado na literatura, tanto o SP quanto o OEC, são responsáveis pela coloração amarelada em filmes. Neste trabalho, a associação dos dois ao filme que já tinha uma tendência para a cor amarela, levou a obtenção de filmes de coloração amarela bem acentuada. Sendo assim, a baixa transparência e tendência para o amarelo dos filmes ativos podem ser um fator negativo para sua aceitação, dependendo do produto que for embalado.

FIGURA 13 - ALFAJORES EMBALADOS: a) FORMULAÇÃO 3F (1,5% DE ÓEC) E b) FORMULAÇÃO CONTROLE.



Fonte: O autor, 2017.

FIGURA 14- IMAGENS FILMES ATIVOS. 1S, 2D E 3 F.



Fonte: O autor, 2017.

4.14 PROPRIEDADES MECÂNICA

A Tabela 17 mostra os valores da força de tração e alongação do filmes ativos.

TABELA 17 - PROPRIEDADES MECÂNICAS DOS FILMES ATIVOS: FORÇA DE TRAÇÃO (FT) E ELASTICIDADE (E).

Formulação	FT (MPa)	ϵ^* (%)
Controle	$13,67^a \pm 0,889$	$6,03^c \pm 2,83$
1S (2% SP)	$0,71^b \pm 0,106$	$72,85^a \pm 7,163$
2D (2% SP e 1,2g OEC)	$0,72^b \pm 0,004$	$47,79^b \pm 0,348$
3F (2% SP e 1,5g OEC)	$0,51^b \pm 0,009$	$41,70^b \pm 0,348$

FONTE: O autor, 2017.

As médias \pm desvios-padrão seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente a um nível de significância de 5 %, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

A presença dos agentes antimicrobianos influenciaram significativamente ($p < 0,05$) a força de tração dos filmes ativos quando comparados ao filme controle. No entanto, os filmes incorporados não apresentaram diferença significativa entre eles. A elongação também aumentou nos filmes incorporados, sendo que o filme apenas de SP foi o que apresentou a maior elongação entre eles. A presença do óleo associado ao sorbato reduziu o valor da elasticidade dos filmes em aproximadamente 42%, quando comparados com o filme incorporado apenas de SP. Por outro lado, quando comparados com o filme controle o aumento da elongação dos filmes ativos foi de aproximadamente 1110% e 590% para os filmes compostos apenas de sorbato e filmes de sorbato e óleo, respectivamente. As propriedades de tensão e elongação foram alteradas pela presença do SP, provavelmente pela sua atuação como plastificante e pela interação com as moléculas de amido (FLORES et al., 2010). AHMAD et al., (2012), sugere que se OE ou outros agentes forem adicionados em matrizes poliméricas em concentrações ideais o filme pode ser fortalecido, dependendo das interações entre as cadeias dos constituintes. No entanto, se adicionados em excesso pode ocorrer a formação de uma matriz heterogênea, com irregularidades ou descontinuidades. Diferentemente do obtido por Acosta et al., (2016), o qual nas concentrações de óleo estudadas as propriedades mecânicas dos filmes de amido e gelatina foram mantidas, neste trabalho ocorreram alterações significativas quando OEC e SP foram adicionados a matriz polimérica.

Embora, os filmes tenham apresentado força de tração bem inferior ao filme controle cerca de 97%, o valor encontrado foi superior ao obtido por Flores et al., (2007) (0,16 Mpa) em um dos filmes de amido de mandioca incorporados com sorbato de potássio. A redução na força de tração e aumento na elasticidade também foi apontado por Bertan, (2008) em filmes de amido, gelatina, glúten e SP. Sendo o mesmo comportamento relatado no estudo de Barzegar et al., (2014) em filmes nanocompósitos de amido e prata.

A atuação das NFC como reforço e consequente aumento na força de tração, apresentada nos filmes da primeira fase do trabalho, não causou efeito expressivo quando SP e OEC estavam presentes. Provavelmente, pela maior interação do SP com as cadeias de amido e sua atuação como plastificante. E pela concentração padrão utilizada.

4.15 MORFOLOGIA DOS FILMES ATIVOS

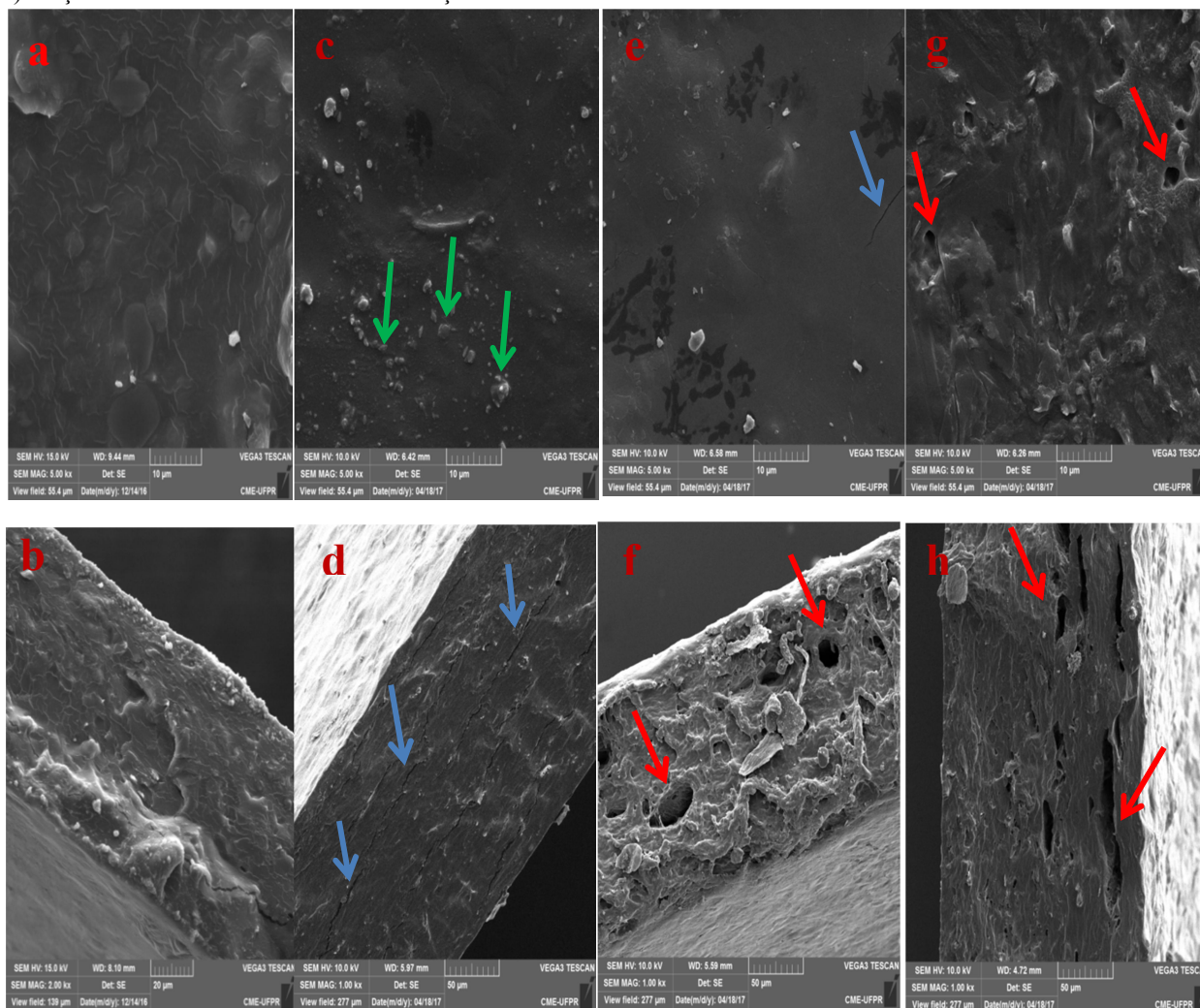
A Figura 15 apresenta as imagens da superfície e da sessão transversal (após o faturamento), dos filmes ativos desenvolvidos. A partir das imagens é possível notar que os

filmes incorporados com os agente antimicrobianos apresentaram descontinuidade, micro poros (Figura 15 f/g/h sinalizadas por setas vermelhas), rachaduras (Figura 15 d/e, assinaladas por setas azuis) e manchas (Figura 15 c/e indicadas com círculo azul). Sendo o mesmo não observado no filme controle (Figura 15 a/b), em que a superfície foi homogênea com disposição uniforme das NFC, conforme mencionado anteriormente. Embora, o filme tenha se apresentado de uma forma mais heterogênea não foi observada separação de fases, comprovando que os agentes antimicrobianos foram incorporados a matriz polimérica. Também foi possível visualizar os cristais de SP (Figura 15 c, sinalizados por seta verdes) formados, provavelmente, a partir da precipitação do sal na matriz polimérica (Figura 15 c sinalizados por seta verde). No trabalho de Bertan, (2008) também foram verificadas manchas nos filmes incorporados de SP em que foram atribuídos a precipitação do SP.

Os microporos formados podem ter sido originados durante o processo de secagem dos filmes, em que ocorre a evaporação de parte do óleo junto com o solvente formando assim um orifício, local antes ocupado pelo OEC. (SÁNCHEZ-GONZÁLEZ et al., 2011; AHMAD et al., 2012). Isso explica o maior de número de cavidades visualizado na imagem 15 g (1,5% de óleo), por apresentar maior concentração de óleo e consequentemente exibir o maior volume de óleo evaporado.

É possível verificar que a formulação 1S apresentou o maior teor de rachaduras na sessão transversal (indicadas pelas setas verdes, Figura 15 d) sendo provavelmente efeito provocado pelo sorbato, uma vez que é solúvel em água pode reagir com ela deixando espaço livre. Essas rachaduras explica o fatos destes filmes terem apresentado a maior PVA.

FIGURA 15- MICROGRAFIAS SUPERFÍCIE E SEÇÃO TRANSVERSAL DOS FILMES ATIVOS. a) SUPERFÍCIE FORMULAÇÃO CONTROLE, b) SEÇÃO TRANSVERSAL FORMULAÇÃO CONTROLE, c) SUPERFÍCIE FORMULAÇÃO 1S, d) SEÇÃO TRANSVERSAL FORMULAÇÃO 1S, e) SUPERFÍCIE FORMULAÇÃO 2D, f) SEÇÃO TRANSVERSAL FORMULAÇÃO 2D, g) SUPERFÍCIE FORMULAÇÃO 3F, h) SEÇÃO TRANSVERSAL FORMULAÇÃO 3F.

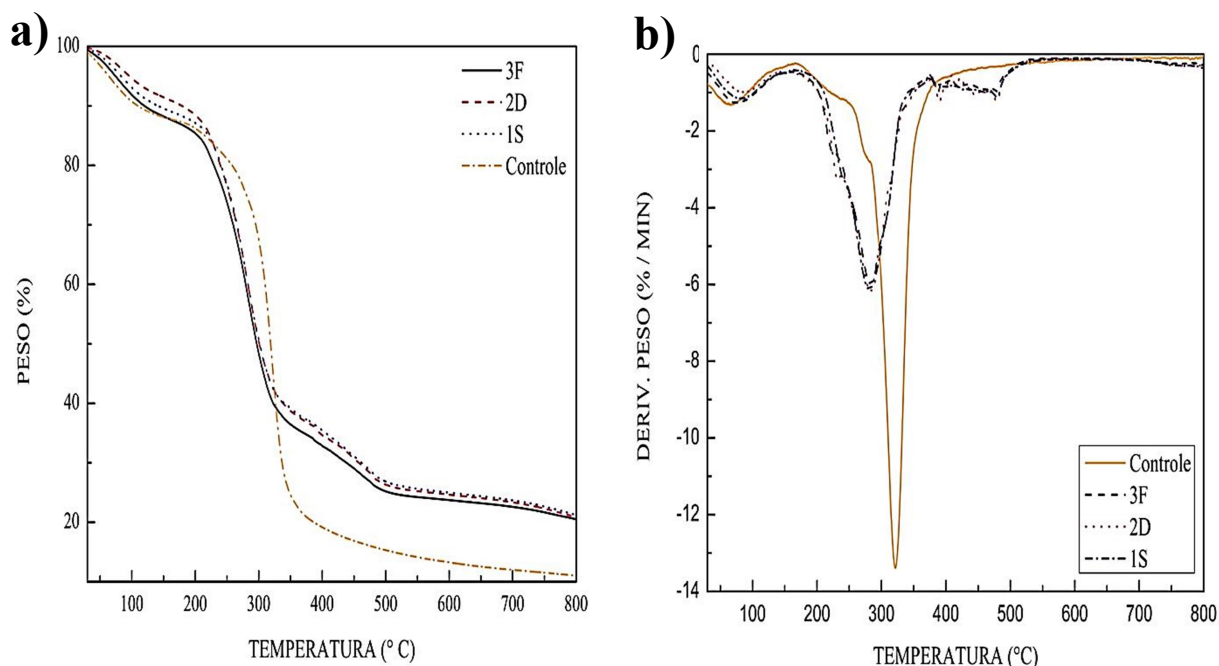


FONTE: O autor, 2017.

4.16 PROPRIEDADES TÉRMICAS DOS FILMES ATIVOS

O comportamento térmico dos filmes ativos e controle estão ilustrados nas Figura 16 (a/b). Por meio de análises termogravimétricas (TGA) e derivadas das curvas de TGA foi possível obter a estabilidade térmica dos filmes. Tanto os filmes ativos quanto o filme controle apresentaram três estágios de perda de massa, porém as faixas de temperatura foram diferentes entre eles.

FIGURA 16 - CURVAS TGA (A) E DTG (B) DOS FILMES: ATIVOS E CONTROLE.



FONTE: O autor, 2017.

Mediante observações da Figura 16 foi possível identificar que a primeira perda de massa foi igual para todos os filmes estudados e ocorreu em temperaturas de até 110°C. Essa perda está relacionada com a evaporação da água e início da evaporação do OEC para os filmes ativos (2D e 3F). Já a segunda perda de massa difere entre os filmes controle e incorporados de OEC e SP. Para o filme controle ocorreu na faixa de temperatura de 180°C a 276°, sendo atribuída a fase rica em glicerol. E nos filmes ativos a segunda fase ocorreu entre as temperaturas de 211°C a 392°C sendo correspondente a maior perda de massa, em torno de 55%. Esta perda está associada a degradação da fase rica em amido, NFC e OEC. A terceira fase para os filmes ativos iniciou em temperaturas de 410 °C até 500 °C e essa perda está relacionada, provavelmente, com o SP, uma vez que no filme controle ela não ocorre. Para o filme controle a terceira etapa da degradação acontece em temperaturas de 300 °C a 410 °C e esta relacionada a maior perda de massa dos filmes, estando relacionada com o amido e NFC.

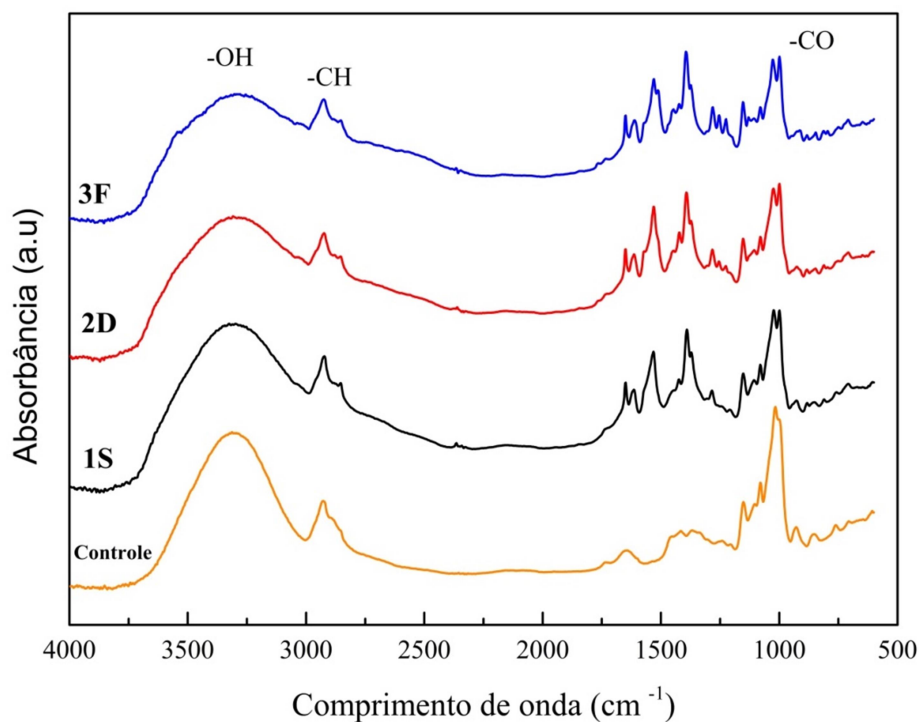
A massa residual ao final do processo de degradação é maior para os filmes ativos sendo que a massa ao final da corrida a temperatura de 800 °C foi de em torno de 21% contra 11% dos filmes controles, provavelmente pela diferença de sólidos entre a formulação controle e os filmes ativos. A presença de óleo essencial (Bergamota e Citrus) também aumentou a massa residual de filmes de gelatina e para os autores Ahmad et al., (2012) está relacionado a diferença de composição entre os óleos e diferença entre formulações.

Foi possível observar que a presença do OEC e SP na matriz polimérica influenciou na estabilidade térmica dos filmes, uma vez que ocorreu redução no valor da temperatura inicial de degradação para a etapa de maior perda de massa. No entanto, entre os filmes ativos não existiu diferença na temperatura de degradação mostrando que entre eles a estabilidade térmica foi a mesma. E que as diferentes concentrações de óleo não influenciaram na degradação térmica do produto. Diferentemente dos resultados alcançados no trabalho de AHMAD et al., (2012) no qual, a adição de óleo essencial de bergamota e citrus aumentou a estabilidade térmica de filmes de gelatina devido a interação entre o óleo e matriz polimérica. Provavelmente, a interação entre o OEC e matriz polimérica que ocorreu não foi intensa o suficiente para causar a melhoria na estabilidade térmica dos filmes. E também, pela presença do SP que pode causar modificação da estrutura da rede de amido (FLORES et al., 2010) causando assim redução da estabilidade térmica.

4.17 INTERAÇÃO E COMPATIBILIDADE ENTRE OS COMPONENTES (FTIR)

Na Figura 17 estão ilustrados os espectros de FTIR obtidos para os filmes desenvolvidos.

FIGURA 17 - ESPECTROS ATR/FTIR DOS FILMES ATIVOS DESENVOLVIDOS.



Fonte: O autor, 2017.

É possível perceber que ocorreu interação entre a matriz polimérica e os agentes antimicrobianos adicionados, uma vez que novos picos surgiram em regiões distintas do controle. A interação entre o óleo e o sorbato também pode ser verificada devido o surgimento de bandas adicionais em regiões de comprimento de onda de 1265 cm^{-1} a 1288 cm^{-1} . Assim como, novas bandas na região de 1394 cm^{-1} a 1541 cm^{-1} surgiram em todas as formulações de filmes ativos, confirmando que novas ligações foram estabelecidas e com isso que houve a interação. No trabalho de Ahmed; Hiremath; Jacob, (2016) a presença de óleos essenciais, dentre eles o cravo, em filmes de poliláctido (PLA) levou ao surgimento de novos picos na região de 1513 cm^{-1} a 1129 cm^{-1} e estes foram atribuídos a interação existente entre os óleos essenciais e os constituintes da matriz polimérica. Um comportamento similar foi encontrado neste trabalho.

Os espectros apresentaram bandas de absorção em regiões características: 1) 3359 cm^{-1} a 3373 cm^{-1} , faixa atribuída ao estiramento dos grupos O-H presentes nas moléculas de amido, água, NFC, glicerol, OEC e SP; 2) 2908 cm^{-1} a 2933 cm^{-1} , faixa atribuída ao estiramento do grupo C-H dos aldeídos presentes na matriz polimérica; 3) Na faixa de 1541 cm^{-1} a 1265 cm^{-1} são picos relacionados a interação entre a matriz polimérica, OEC e SP, novos picos, que não foram característicos ao filme controle. (JARAMILLO et al., 2016; MENDES et al., 2016; SELIGRA et al., 2016; AHMED; HIREMATH; JACOB, 2016).

A região do grupos OH sofreu redução na amplitude dos picos conforme o SP foi adicionado e a concentração de OEC foi aumentada. Provavelmente, mais grupos OH estiveram livres devido a dissociação das moléculas de amido (SHEN et al., 2010).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste trabalho, verificou-se que a aplicação de nanocelulose obtida a partir de resíduos agroindustriais do cultivo do palmito pupunha em embalagens biodegradáveis serve como uma solução promissora para o destino dos resíduos. Sua potencial aplicação como reforço físico na formulação de filmes à base de amido de mandioca segue a tendência mundial de produção de polímeros biodegradáveis a partir de fontes renováveis e sustentáveis.

A adição de NFC ao amido de mandioca para produção de filmes biodegradáveis produziu melhorias na maior parte das propriedades estudadas. O emprego da NFC nos filmes possibilitou a obtenção de um material com maior força de tensão, menor alongação, e PVA reduzida quando comparados ao filme controle.

Ao passo que quando a concentração de NCF aumentou, houve uma redução na transparência e tendência para cor amarelada nos filmes. A presença da NFC na matriz polimérica influenciou na redução da solubilidade em água, da umidade e da atividade de água.

A análise por microscopia permitiu a visualização da disposição das nanofibrilas na matriz polimérica, e demonstraram que, embora para algumas formulações não tenha ocorrido homogeneidade da dispersão das NFC, isso não afetou os demais parâmetros estudados, uma vez que foi apresentada melhoria em todas as propriedades estudadas.

A adição dos agentes antimicrobianos levou a produção de filmes amarelados com baixa transparência e elevada solubilidade em água. Além de ter causado redução na força de tração e aumento na alongação. Nas concentrações de SP e OC utilizadas a presença da NFC na concentração de estudo não foi suficiente para manter inalterada as propriedades mecânicas.

Os filmes adicionados de OEC e SP apresentaram poder de inibição para os microrganismos avaliados. No entanto, a adição do OEC e SP influenciou em todas as características dos filmes.

Pelas características observadas, os filmes ativos e não ativos obtidos no trabalho têm potencial aplicação para produção de embalagens de alimentos. No entanto, as aplicações de cada filme devem ser distintas, a fim de respeitar as características de cada filme. Os filmes adicionados apenas de NFC podem ser usados para contato direto com matrizes de baixo teor de umidade. Dentre as formulações desenvolvidas a C (contendo 0.33% de nanocelulose) apresentou excelentes características físicas, mecânicas e melhor dispersão das NFC na matriz

polimérica. Já os filmes ativos poderiam ser aplicados em alimentos em que o teor de umidade fosse mais elevado e em alimentos que o cravo fosse parte da constituição, uma vez que os filmes apresentaram cheiro característico do óleo.

6 RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Aplicação dos filmes com e sem antimicrobiano como embalagens de alguns tipos de produtos.

Estudo da biodegradabilidade dos filmes.

Estudo da migração dos compostos antimicrobianos dos filmes para os possíveis produtos a serem embalados.

Estudo da liberação do sorbato durante o período de armazenamento.

Avaliação da solubilidade dos filmes em diferentes pHs.

Produção dos filmes pelo método de extrusão e comparação das propriedades mecânicas, térmicas e PVA com os filmes obtidos a partir do método casting.

Utilizar apenas o óleo essencial de cravo como antimicrobiano para o filme e testar meios de incorporação deste através da utilização de emulsificantes.

Aplicar concentrações maiores de nanofibrila de celulose nos filmes incorporados de óleo e sorbato de potássio e avaliar a influência nas propriedades físicas e mecânicas destes filmes.

REFERÊNCIAS

ABAM – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE AMIDO DE MANDIOCA Disponível em: <http://www.abam.com.br/noticias-detalle.php?id=MDAwNTE>. Acesso em 27 de set. 2016.

ABIPLAST - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE INDUSTRIAS DO PLÁSTICO. Disponível em: <http://www.abiplast.org.br/>. Acesso em 03 de mar. 2017.

ABRAHAM, E.; DEEPA, B.; POTHAN, L. A.; JACOB, M.; THOMAS, S.; CVELBAR, U.; ANANDJIWALA, R. Extraction of nanocellulose fibrils from lignocellulosic fibres: A novel approach. **Carbohydrate Polymers**, v. 86, n. 4, p. 1468–1475, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.06.034>>.

ACOSTA, S.; CHIRALT, A.; SANTAMARINA, P.; ROSELLO, J.; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C.; CHÁFER, M. Antifungal films based on starch-gelatin blend, containing essential oils. **Food Hydrocolloids**, v. 61, p. 233–240, 2016.

AHMAD, M.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T.; AGUSTINI, T. W. Physico-mechanical and antimicrobial properties of gelatin film from the skin of unicorn leatherjacket incorporated with essential oils. **Food Hydrocolloids**, v. 28, n. 1, p. 189–199, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.12.003>>.

AHMED, J.; HIREMATH, N.; JACOB, H. Antimicrobial, Rheological, and Thermal Properties of Plasticized Polylactide Films Incorporated with Essential Oils to Inhibit *Staphylococcus aureus* and *Campylobacter jejuni*. **Journal of Food Science**, v. 81, n. 2, p. E419–E429, 2016.

AILA-SUÁREZ, S.; PALMA-RODRÍGUEZ, H. M.; RODRÍGUEZ-HERNÁNDEZ, A. I.; HERNÁNDEZ-URIBE, J. P.; BELLO-PÉREZ, L. A.; VARGAS-TORRES, A. Characterization of films made with chayote tuber and potato starches blending with cellulose nanoparticles. **Carbohydrate Polymers**, v. 98, n. 1, p. 102–107, 2013. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861713004979>>. Acesso em: 25 abr. 2017.

ALVES-SILVA, J. M.; DIAS DOS SANTOS, S. M.; PINTADO, M. E.; PÉREZ-ÁLVAREZ, J. A.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J.; VIUDA-MARTOS, M. Chemical composition and in vitro antimicrobial, antifungal and antioxidant properties of essential oils obtained from some herbs widely used in Portugal. **Food Control**, v. 32, n. 2, p. 371–378, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.12.022>>.

ALVES, H.; PIRES, W.; NETO, F.; OLIVEIRA, N.; PASQUINI, D. Extraction and characterization of cellulose nanocrystals from corn cob for application as reinforcing agent in nanocomposites. v. 44, p. 427–436, 2013.

ALVES, V. D.; MALI, S.; BELÉIA, A.; GROSSMANN, M. V. E. Effect of glycerol and amylose enrichment on cassava starch film properties. **Journal of Food Engineering**, v. 78, n. 3, p. 941–946, 2007.

ANDRADE-MAHECHA, M. M.; PELISSARI, F. M.; TAPIA-BLÁCIDO, D. R.; MENEGALLI, F. C. Achira as a source of biodegradable materials: Isolation and characterization of nanofibers. **Carbohydrate Polymers**, v. 123, p. 406–415, 2015.

ARENAS, A. Z. Filme biodegradável à base de fécula de mandioca como potencial indicador de mudança de pH. **Teses.Usp.Br**, p. 130, 2012. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/3/3137/tde-12032013-150645/en.php>>.

ARVANITOYANNIS, I.; BILIADERIS, C. G. Physical properties of polyol-plasticized edible blends made of methyl cellulose and soluble starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 38, n. 1, p. 47–58, 1999. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861798000873>>.

ASSIS, L. M. De; ZAVAREZE, E. D. R.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C.; SOUZA-SOARES, L. A. De. Revisão: características de nanopartículas e potenciais aplicações em alimentos. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 15, n. 2, p. 99–109, 2012.

ATARÉS, L.; CHIRALT, A. Essential oils as additives in biodegradable films and coatings for active food packaging. **Trends in Food Science and Technology**, v. 48, p. 51–62, 2016.

AVEROUS, L.; FAUCONNIER, N.; MORO, L.; FRINGANT, C. Blends of thermoplastic starch and polyesteramide: processing and properties. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 76, n. 2, p. 1117–1128, 1999. Disponível em: <<http://www.biodeg.net/fichiers/Biocomposites based on plasticized starch thermal and mechanical behaviours.pdf>>.

AZEREDO, H. M. C. de. Nanocomposites for food packaging applications. **Food Research International**, v. 42, n. 9, p. 1240–1253, 2009. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S096399690900091X>>. Acesso em: 25 abr.

2017.

BARZEGAR, H.; AZIZI, M. H.; BARZEGAR, M.; HAMIDI-ESFAHANI, Z. Effect of potassium sorbate on antimicrobial and physical properties of starch-clay nanocomposite films. **Carbohydrate Polymers**, v. 110, p. 26–31, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.03.092>>.

BELIBI, P. C.; DAOU, T. J.; NDJAKA, J. M. B.; NSOM, B.; MICHELIN, L.; DURAND, B. A comparative study of some properties of cassava and tree cassava starch films. **Physics Procedia**, v. 55, p. 220–226, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.phpro.2014.07.032>>.

BERTAN, L. C. Desenvolvimento e caracterização de biofilmes ativos à base de polímeros de fontes renováveis e sua aplicação no acondicionamento de pães de forma. **Universidade Estadual de Campinas.Faculdade de Engenharia de Alimentos**, v. s/n, 2008.

BLANCO-PASCUAL, N.; FERNÁNDEZ-MARTÍN, F.; MONTERO, M. P. Effect of different protein extracts from *Dosidicus gigas* muscle co-products on edible films development. **Food Hydrocolloids**, v. 33, n. 1, p. 118–131, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.02.019>>.

BOLANHO, B. C.; DANESI, E. D. G.; BELÉIA, A. D. P. Carbohydrate composition of peach palm (*Bactris gasipaes* Kunth) by-products flours. **Carbohydrate Polymers**, v. 124, p. 196–200, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.02.021>>.

BRAS, J.; HASSAN, M. L.; BRUZESSE, C.; HASSAN, E. A.; EL-WAKIL, N. A.; DUFRESNE, A. Mechanical, barrier, and biodegradability properties of bagasse cellulose whiskers reinforced natural rubber nanocomposites. **Industrial Crops and Products**, v. 32, n. 3, p. 627–633, 2010. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669010001962>>. Acesso em: 25 abr. 2017.

BRAS, J.; VIET, D.; BRUZZESE, C.; DUFRESNE, A. Correlation between stiffness of sheets prepared from cellulose whiskers and nanoparticles dimensions. **Carbohydrate Polymers**, v. 84, n. 1, p. 211–215, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.11.022>>.

CALLISTER, W. D.; WILEY, J.-J.; SONS. **Materials science and engineering an introduction**. [s.l: s.n.]

CANO, A.; JIMÉNEZ, A.; CHÁFER, M.; GÓNZALEZ, C.; CHIRALT, A. Effect of amylose:amylopectin ratio and rice bran addition on starch films properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 111, p. 543–555, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.04.075>>.

CARPINÉ, D. Desenvolvimento e caracterização de filme emulsionado biodegradável produzido a partir de proteína isolada de soja, óleo de coco e surfactantes naturais. **Tese Doutorado**, v. 1, p. 116, 2015.

CARVALHO, R. A. De; GROSSO, C. R. F. Efeito do tratamento térmico e enzimático nas propriedades de filmes de gelatina. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 3, p. 495–501, 2006.

CASARIN, S. A.; AGNELLI, J. A. M.; MALMONGE, S. M.; ROSÁRIO, F. Blendas PHB / Copoliésteres Biodegradáveis – Biodegradação em Solo TÉCNICO. **Polímeros**, v. 23, n. 1, p. 115–122, 2013.

CASTRO, M.; GARRO, O.; GERSCHENSON, L. N.; CAMPO, C. A. INTERACTION BETWEEN POTASSIUM SORBATE, OIL AND TWEEN 20: ITS EFFECT ON THE GROWTH AND INHIBITION OF Z BAILII IN MODEL SALAD DRESSINGS. v. 23, p. 47–59, 2003.

CHAICHI, M.; HASHEMI, M.; BADIL, F.; MOHAMMADI, A. Preparation and characterization of a novel bionanocomposite edible film based on pectin and crystalline nanocellulose. **Carbohydrate Polymers**, v. 157, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.09.062>>.

CHAKER, A.; MUTJÉ, P.; VILAR, M. R.; BOUFI, S. Agriculture crop residues as a source for the production of nanofibrillated cellulose with low energy demand. **Cellulose**, v. 21, n. 6, p. 4247–4259, 2014.

CHANG, P. R.; JIAN, R.; ZHENG, P.; YU, J.; MA, X. Preparation and properties of glycerol plasticized-starch (GPS)/cellulose nanoparticle (CN) composites. **Carbohydrate Polymers**, v. 79, n. 2, p. 301–305, 2010a. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861709004287>>. Acesso em: 25 abr. 2017.

CHAU, C. F.; WU, S. H.; YEN, G. C. The development of regulations for food nanotechnology. **Trends in Food Science and Technology**, v. 18, n. 5, p. 269–280, 2007.

CHEN, D.; LAWTON, D.; THOMPSON, M. R.; LIU, Q. Biocomposites reinforced with cellulose nanocrystals derived from potato peel waste. **Carbohydrate Polymers**, v. 90, n. 1, p. 709–716, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.06.002>>.

CHEN, G.; ZHANG, B.; ZHAO, J. Dispersion process and effect of oleic acid on properties of cellulose sulfate-oleic acid composite film. **Materials**, v. 8, n. 5, p. 2346–2360, 2015.

CHEN, W.; LI, Q.; WANG, Y.; YI, X.; ZENG, J.; YU, H.; LIU, Y.; LI, J. Comparative study of aerogels obtained from differently prepared nanocellulose fibers. **ChemSusChem**, v. 7, n. 1, p. 154–161, 2014.

CHEN, Y.; LIU, C.; CHANG, P. R.; CAO, X.; ANDERSON, D. P. Bionanocomposites based on pea starch and cellulose nanowhiskers hydrolyzed from pea hull fibre : Effect of hydrolysis time. **Carbohydrate Polymers**, v. 76, n. 4, p. 607–615, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2008.11.030>>.

CHEN, Y.; ZHANG, Y.; XU, C.; CAO, X. Cellulose nanocrystals reinforced foamed nitrile rubber nanocomposites. **Carbohydrate Polymers**, v. 130, p. 149–154, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.05.017>>.

CUQ, B.; GONTARD, N.; GUILBERT, S. Edible films and coatings as active layers. **Active food packaging**, p. 111–142, 1995.

CURVELO, A. A. .; DE CARVALHO, A. J. .; AGNELLI, J. A. . Thermoplastic starch–cellulosic fibers composites: preliminary results. **Carbohydrate Polymers**, v. 45, n. 2, p. 183–188, 2001. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861700003143>>. Acesso em: 25 abr. 2017.

CUSHEN, M.; KERRY, J.; MORRIS, M.; CRUZ-ROMERO, M.; CUMMINS, E. Nanotechnologies in the food industry - Recent developments, risks and regulation. **Trends in Food Science and Technology**, v. 24, n. 1, p. 30–46, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2011.10.006>>.

DA SILVA, J. B. A.; NASCIMENTO, T.; COSTA, L. A. S.; PEREIRA, F. V.; MACHADO, B. A.; GOMES, G. V. P.; ASSIS, D. J.; DRUZIAN, J. I. Effect of Source and Interaction with Nanocellulose Cassava Starch, Glycerol and the Properties of Films Bionanocomposites.

Materials Today: Proceedings, v. 2, n. 1, p. 200–207, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.matpr.2015.04.022>>.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de alimentos de fennema**. [s.l: s.n.]

DANGARAN, K.; TOMASULA, P.; PHOEBE, Q. **Structure and function of protein-based edible films and coatings**. [s.l: s.n.]

DE SOUZA, A. C. **Desenvolvimento de embalagem biodegradável ativa a base de fécula de mandioca e agentes antimicrobianos naturais**. 2011..

DE SOUZA, A. C.; DITCHFIELD, C.; TADINI, C. C. Biodegradable Films Based on Biopolymers for Food Industries. In: **Innovation in Food Engineering: New Techniques and Products**. [s.l: s.n.]p. 520–521.

DEEPA, B.; ABRAHAM, E.; CORDEIRO, N.; MOZETIC, M.; MATHEW, A. P.; OKSMAN, K.; FARIA, M.; THOMAS, S.; POTHAN, L. A. Utilization of various lignocellulosic biomass for the production of nanocellulose: a comparative study. **Cellulose**, v. 22, n. 2, p. 1075–1090, 2015.

DREXLER, K. E. Nanotechnology: From Feynman to Funding. **Bulletin of Science, Technology and Society**, v. 24, n. 1, p. 21–27, 2004.

DURÁN, N.; MATTOSO, L. H. C.; MORAIS, P. C. **Nanotecnologia: introdução, preparo e caracterização de nanomateriais e exemplos de aplicação**. ARTLIBER ed. [s.l: s.n.]

ECHEVERRÍA, I.; LÓPEZ-CABALLERO, M. E.; GÓMEZ-GUILLÉN, M. C.; MAURI, A. N.; MONTERO, M. P. Structure, Functionality, and Active Release of Nanoclay–Soy Protein Films Affected by Clove Essential Oil. **Food and Bioprocess Technology**, v. 9, n. 11, p. 1937–1950, 2016. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s11947-016-1777-z>>.

ESPITIA, P. J. P.; SOARES, N. de F. F.; COIMBRA, J. S. dos R.; DE ANDRADE, N. J.; CRUZ, R. S.; MEDEIROS, E. A. A. Zinc Oxide Nanoparticles: Synthesis, Antimicrobial Activity and Food Packaging Applications. **Food and Bioprocess Technology**, v. 5, n. 5, p. 1447–1464, 2012.

FABRA, M. J.; JIMÉNEZ, A.; ATARÉS, L.; TALENS, P.; CHIRALT, A. Effect of fatty acids and beeswax addition on properties of sodium caseinate dispersions and films. **Biomacromolecules**, v. 10, n. 6, 2009.

FAMÁ, L.; FLORES, S. K.; GERSCHENSON, L.; GOYANES, S. Physical characterization of cassava starch biofilms with special reference to dynamic mechanical properties at low temperatures. **Carbohydrate Polymers**, v. 66, n. 1, p. 8–15, 2006.

FAN, H.; JI, N.; ZHAO, M.; XIONG, L.; SUN, Q. Characterization of starch films impregnated with starch nanoparticles prepared by 2,2,6,6-tetramethylpiperidine-1-oxyl (TEMPO)-mediated oxidation. **Food Chemistry**, v. 192, p. 865–872, 2016b.

FLAUZINO NETO, W. P.; MARIANO, M.; DA SILVA, I. S. V.; SILVÉRIO, H. A.; PUTAUX, J. L.; OTAGURO, H.; PASQUINI, D.; DUFRESNE, A. Mechanical properties of natural rubber nanocomposites reinforced with high aspect ratio cellulose nanocrystals isolated from soy hulls. **Carbohydrate Polymers**, v. 153, p. 143–152, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.07.073>>.

FLORES, S.; FAMÁ, L.; ROJAS, A. M.; GOYANES, S.; GERSCHENSON, L. Physical properties of tapioca-starch edible films: Influence of filmmaking and potassium sorbate. **Food Research International**, v. 40, n. 2, p. 257–265, 2007. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996906000378>>. Acesso em: 27 abr. 2017.

FLORES, S. K.; COSTA, D.; YAMASHITA, F.; GERSCHENSON, L. N.; GROSSMANN, M. V. Mixture design for evaluation of potassium sorbate and xanthan gum effect on properties of tapioca starch films obtained by extrusion. **Materials Science and Engineering C**, v. 30, n. 1, p. 196–202, 2010. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0928493109002707>>. Acesso em: 27 abr. 2017.

FORTUNATI, E.; LUZI, F.; JIMÉNEZ, A.; GOPAKUMAR, D. A.; PUGLIA, D.; THOMAS, S.; KENNY, J. M.; CHIRALT, A.; TORRE, L. Revalorization of sunflower stalks as novel sources of cellulose nanofibrils and nanocrystals and their effect on wheat gluten bionanocomposite properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 149, p. 357–368, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.04.120>>.

FRANCO, c. m. l.; DAIUTO, E. R.; DEMIATE, I. M.; CARVALHO, L. J. C. B.; LEONEL,

M.; CEREDA, M. P.; VILPOUX, O. F.; SARMENTO, S. B. . **Propriedades gerais do amido**. Fundação C ed. [s.l: s.n.]

GARCÍA, A.; GANDINI, A.; LABIDI, J.; BELGACEM, N.; BRAS, J. Industrial and crop wastes: A new source for nanocellulose biorefinery. **Industrial Crops and Products**, v. 93, p. 26–38, 2016. Disponível em:
<<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0926669016303880>>.

GONTARD, N.; GUILBERT, S.; CUQ, J.-L. Edible Wheat Gluten Films: Influence of the Main Process Variables on Film Properties using Response Surface Methodology. **Journal of Food Science**, v. 57, n. 1, p. 190–195, 1992. Disponível em:
<<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2621.1992.tb05453.x>>.

GONTARD, N.; GUILBERT, S.; CUQ, J. L. Water and glycerol as plasticizers affect mechanical and water vapor barrier properties of an edible wheat gluten film. **Journal of Food Science**, v. 58, n. 1, p. 206–211, 1993.

GUIMARÃES, M.; BOTARO, V. R.; NOVACK, K. M.; TEIXEIRA, F. G.; TONOLI, G. H. D. Starch/PVA-based nanocomposites reinforced with bamboo nanofibrils. **Industrial Crops and Products**, v. 70, p. 72–83, 2015.

HAFSA, J.; SMACH, M. ali; BEN KHEDHER, M. R.; CHARFEDDINE, B.; LIMEM, K.; MAJDOUB, H.; ROUATBI, S. Physical, antioxidant and antimicrobial properties of chitosan films containing Eucalyptus globulus essential oil. **LWT - Food Science and Technology**, v. 68, p. 356–364, 2016.

HANSSON, S.; ÖSTMARK, E.; CARLMARK, A.; MALMSTRÖM, E. ARGET ATRP for versatile grafting of cellulose using various monomers. **ACS Applied Materials and Interfaces**, v. 1, n. 11, p. 2651–2659, 2009.

HENRIQUE, C. M.; CEREDA, M. P.; SARMENTO, S. B. S. Características físicas de filmes biodegradáveis produzidos a partir de amidos modificados de mandioca. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 1, p. 231–240, 2008.

HESSE, M.; MEIER, H.; ZEEH, B. **Métodos espectroscópicos en química orgánica**. 2^a ed. [s.l: s.n.]

HSIEH, Y. Lo. Cellulose nanocrystals and self-assembled nanostructures from cotton, rice straw and grape skin: A source perspective. **Journal of Materials Science**, v. 48, n. 22, p. 7837–7846, 2013.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATISTICA - Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/> - Acesso em: 23 jan. 2017.

IPEA - INSTITUTO DE PESQUISA ECONÔMICA APLICADA. Disponível em: <http://www.ipea.gov.br/portal/> - Acesso em: 02 de fev. 2017.

JARAMILLO, C. M.; GUTIÉRREZ, T. J.; GOYANES, S.; BERNAL, C.; FAMÁ, L. Biodegradability and plasticizing effect of yerba mate extract on cassava starch edible films. **Carbohydrate Polymers**, v. 151, p. 150–159, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.05.025>>.

JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. 6ª Edição ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

JIANG, F.; HSIEH, Y. Lo. Cellulose nanocrystal isolation from tomato peels and assembled nanofibers. **Carbohydrate Polymers**, v. 122, p. 60–68, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.12.064>>.

JOHAR, N.; AHMAD, I.; DUFRESNE, A. Extraction, preparation and characterization of cellulose fibres and nanocrystals from rice husk. **Industrial Crops and Products**, v. 37, n. 1, p. 93–99, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2011.12.016>>.

KALLEL, F.; BETTAIEB, F.; KHIARI, R.; GARCÍA, A.; BRAS, J.; CHAABOUNI, S. E. Isolation and structural characterization of cellulose nanocrystals extracted from garlic straw residues. **Industrial Crops and Products**, v. 87, p. 287–296, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.04.060>>.

KAYA, M.; ODABASI, M.; MUJTABA, M.; SEN, M.; BULUT, E.; AKYUZ, B. Novel three-dimensional cellulose produced from trunk of *Astragalus gummifer* (Fabaceae) tested for protein adsorption performance. **Materials Science and Engineering C**, v. 62, p. 144–151, 2016.

KUMAR, A.; NEGI, Y. S.; CHOUDHARY, V.; BHARDWAJ, N. K. Characterization of Cellulose Nanocrystals Produced by Acid-Hydrolysis from Sugarcane Bagasse as Agro-

Waste. **Journal of Materials Physics and Chemistry**, v. 2, n. 1, p. 1–8, 2014. Disponível em: <<http://pubs.sciepub.com/jmpc/2/1/1/index.html>>.

LEITE, A. L. M. P.; ZANON, C. D.; MENEGALLI, F. C. Isolation and characterization of cellulose nanofibers from cassava root bagasse and peelings. **Carbohydrate Polymers**, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.10.048>>.

LIU, C.; LI, B.; DU, H.; LV, D.; ZHANG, Y.; YU, G.; MU, X.; PENG, H. Properties of nanocellulose isolated from corncob residue using sulfuric acid, formic acid, oxidative and mechanical methods. **Carbohydrate Polymers**, v. 151, p. 716–724, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.06.025>>.

LÓPEZ, O. V.; GIANNUZZI, L.; ZARITZKY, N. E.; GARCÍA, M. A. Potassium sorbate controlled release from corn starch films. **Materials Science and Engineering: C**, v. 33, n. 3, p. 1583–1591, 2013. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0928493112006339>>. Acesso em: 27 abr. 2017.

LU, Y.; ZHAI, Y.; LIU, M.; WU, Q. Biodiesel production from algal oil using cassava (*Manihot esculenta* Crantz) as feedstock. **Journal of Applied Phycology**, v. 22, n. 5, p. 573–578, 2010.

MACHADO, B. A. S.; NUNES, I. L.; PEREIRA, F. V.; DRUZIAN, J. I. Desenvolvimento e avaliação da eficácia de filmes biodegradáveis de amido de mandioca com nanocelulose como reforço e com extrato de erva-mate como aditivo antioxidante. **Ciência Rural**, v. 42, n. 11, p. 2085–2091, 2012.

MAGALHÃES, W. L. E.; PIANARO, S. A.; GRANADO, C. J. F.; SATYANARAYANA, K. G. Preparation and characterization of polypropylene/heart-of-peach palm sheath composite. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 127, n. 2, p. 1285–1294, 2013.

MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E.; GARCÍA, M. A.; MARTINO, M. N.; ZARITZKY, N. E. Barrier, mechanical and optical properties of plasticized yam starch films. **Carbohydrate Polymers**, v. 56, n. 2, p. 129–135, 2004.

MENDES, J. F.; PASCHOALIN, R. T.; CARMONA, V. B.; SENA NETO, A. R.; MARQUES, A. C. P.; MARCONCINI, J. M.; MATTOSO, L. H. C.; MEDEIROS, E. S.; OLIVEIRA, J. E. Biodegradable polymer blends based on corn starch and thermoplastic chitosan processed by extrusion. **Carbohydrate Polymers**, v. 137, p. 452–458, 2016.

MONTERO, B.; RICO, M.; RODRÍGUEZ-LLAMAZARES, S.; BARRAL, L.; BOUZA, R. Effect of nanocellulose as a filler on biodegradable thermoplastic starch films from tuber, cereal and legume. **Carbohydrate Polymers**, v. 157, p. 1094–1104, 2016. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0144861716312449>>.

MULLA, M.; AHMED, J.; AL-ATTAR, H.; CASTRO-AGUIRRE, E.; ARFAT, Y. A.; AURAS, R. Antimicrobial efficacy of clove essential oil infused into chemically modified LLDPE film for chicken meat packaging. **Food Control**, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.09.018>>.

NAGALAKSHMAIAH, M.; KISSI, N. El; MORTHA, G.; DUFRESNE, A. Structural investigation of cellulose nanocrystals extracted from chili leftover and their reinforcement in cariflex-IR rubber latex. **Carbohydrate Polymers**, v. 136, p. 945–954, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.09.096>>.

NETO, W. P. F.; SILVÉRIO, H. A.; DANTAS, N. O.; PASQUINI, D. Extraction and characterization of cellulose nanocrystals from agro-industrial residue—Soy hulls. **Industrial Crops and Products**, v. 42, p. 480–488, 2013.

NGUYEN, D. M.; DO, T. V. V.; GRILLET, A.-C.; HA THUC, H.; HA THUC, C. N. Biodegradability of polymer film based on low density polyethylene and cassava starch. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 115, p. 257–265, 2016.

NIELSEN, P. V.; RIOS, R. Inhibition of fungal growth on bread by volatile components from spices and herbs, and the possible application in active packaging, with special emphasis on mustard essential oil. **International Journal of Food Microbiology**, v. 60, n. 2–3, p. 219–229, 2000.

OATES, C. G. Towards an understanding of starch granule structure and hydrolysis. **Trends in Food Science and Technology**, v. 8, n. 11, p. 375–382, 1997.

OLIVEIRA, F. B. de; BRAS, J.; PIMENTA, M. T. B.; CURVELO, A. A. da S.; BELGACEM, M. N. Production of cellulose nanocrystals from sugarcane bagasse fibers and pith. **Industrial Crops and Products**, v. 93, p. 48–57, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.04.064>>.

OLOMO, O. V.; AJIBOLA, O. O. Processing factors affecting the yield and physicochemical

properties of starches from cassava chips and flour. **AMA, Agricultural Mechanization in Asia, Africa and Latin America**, v. 37, n. 1, p. 65–69, 2006.

OUATTARA, B.; SIMARD, R. E.; HOLLEY, R. A.; PIETTE, G. J. P.; BÉGIN, A. Antibacterial activity of selected fatty acids and essential oils against six meat spoilage organisms. **International Journal of Food Microbiology**, v. 37, n. 2–3, p. 155–162, 1997.

OUN, A. A.; RHIM, J. W. Isolation of cellulose nanocrystals from grain straws and their use for the preparation of carboxymethyl cellulose-based nanocomposite films. **Carbohydrate Polymers**, v. 150, p. 187–200, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.05.020>>.

PALMU, P. S. T. **Preparação, propriedades e aplicação de biofilmes comestíveis à base de glúten de trigo**. 2003. 2003.

PEREDA, J. A. O.; RODRIGUEZ, M. I. C.; SANZ, M. L. G.; MINGUILLÓN, G. D. G. D. F.; PERALES, L. D. L. H.; CONTECERO, M. D. S. **Tecnología de alimentos**. ARTMED ed. [s.l.: s.n.]

RODIONOVA, G.; SAITO, T.; LENES, M.; ERIKSEN, Ø.; GREGERSEN, Ø.; FUKUZUMI, H.; ISOGAI, A. Mechanical and oxygen barrier properties of films prepared from fibrillated dispersions of TEMPO-oxidized Norway spruce and Eucalyptus pulps. **Cellulose**, v. 19, n. 3, p. 705–711, 2012.

ROSA, M. F.; MEDEIROS, E. S.; MALMONGE, J. A.; GREGORSKI, K. S.; WOOD, D. F.; MATTOSO, L. H. C.; GLENN, G.; ORTS, W. J.; IMAM, S. H. Cellulose nanowhiskers from coconut husk fibers: Effect of preparation conditions on their thermal and morphological behavior. **Carbohydrate Polymers**, v. 81, n. 1, p. 83–92, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.01.059>>.

RUIZ-NAVAJAS, Y.; VIUDA-MARTOS, M.; SENDRA, E.; PEREZ-ALVAREZ, J. A.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J. In vitro antibacterial and antioxidant properties of chitosan edible films incorporated with *Thymus moroderi* or *Thymus piperella* essential oils. **Food Control**, v. 30, n. 2, p. 386–392, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.07.052>>.

SAHOO, S. K.; PARVEEN, S.; PANDA, J. J. The present and future of nanotechnology in human health care. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine**, v. 3, n. 1, p. 20–31, 2007.

SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, L.; PASTOR, C.; VARGAS, M.; CHIRALT, A.; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C.; CHÁFER, M. Postharvest Biology and Technology Effect of hydroxypropylmethylcellulose and chitosan coatings with and without bergamot essential oil on quality and safety of cold-stored grapes. v. 60, p. 57–63, 2011.

SANTOS, a. S.; FARINA, M. Z.; PEZZIN, P. T.; SILVA, D. a. K. The Application of Peach Palm Fibers as an Alternative to Fiber Reinforced Polyester Composites. **Journal of Reinforced Plastics and Composites**, v. 27, n. 16–17, p. 1805–1816, 2008.

SANTOS, R. M. dos; FLAUZINO NETO, W. P.; SILVÉRIO, H. A.; MARTINS, D. F.; DANTAS, N. O.; PASQUINI, D. Cellulose nanocrystals from pineapple leaf, a new approach for the reuse of this agro-waste. **Industrial Crops and Products**, v. 50, p. 707–714, 2013.

SELIGRA, P. G.; JARAMILLO, C. M.; FAMÁ, L.; GOYANES, S. Biodegradable and non-retrogradable eco-films based on starch-glycerol with citric acid as crosslinking agent. **Carbohydrate Polymers**, v. 138, p. 66–74, 2016.

SHEN, X. L.; WU, J. M.; CHEN, Y.; ZHAO, G. Antimicrobial and physical properties of sweet potato starch films incorporated with potassium sorbate or chitosan. **Food Hydrocolloids**, v. 24, n. 4, p. 285–290, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2009.10.003>>.

SILVA, R. B. DA; MING, L. C. **Polo de biotecnologia da mata atlântica: relatos de pesquisas e outras experiências vividas no vale do ribeira**. [s.l: s.n.]

SMITH-PALMER, A.; STEWART, J.; FYFE, L. Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens. **Lett Appl Microbiol**, v. 26, n. 2, p. 118–122, 1998. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=9569693>.

SOTHORNVIT, R.; KROCHTA, J. Plasticizers in edible films and coatings. **Innovations in Food Packaging**, p. 403–433, 2005. Disponível em: <<http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:Plasticizers+in+edible+films+and+coatings#0>>.

SOUSA, G. M. Desenvolvimento de filmes biodegradáveis ativos e aplicação na conservação

de massa alimentícia fresca. p. 0–88, 2012.

SOUSA, G. M.; YAMASHITA, F.; SOARES JÚNIOR, M. S. Application of biodegradable films made from rice flour, poly(butylene adipate-co-terphthalate), glycerol and potassium sorbate in the preservation of fresh food pastas. **LWT - Food Science and Technology**, v. 65, p. 39–45, 2016. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643815300712>>. Acesso em: 27 abr. 2017.

SOUZA, A. C.; BENZE, R.; FERRÃO, E. S.; DITCHFIELD, C.; COELHO, A. C. V.; TADINI, C. C. Cassava starch biodegradable films: Influence of glycerol and clay nanoparticles content on tensile and barrier properties and glass transition temperature. **LWT - Food Science and Technology**, v. 46, n. 1, p. 110–117, 2012.

SOUZA, A. C.; GOTO, G. E. O.; MAINARDI, J. A.; COELHO, A. C. V.; TADINI, C. C. LWT - Food Science and Technology Cassava starch composite films incorporated with cinnamon essential oil : Antimicrobial activity , microstructure , mechanical and barrier properties. **LWT - Food Science and Technology**, v. 54, n. 2, p. 346–352, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2013.06.017>>.

STAGGS, J. E. J. Discrete bond-weighted random scission of linear polymers. **Polymer**, v. 47, n. 3, p. 897–906, 2006.

TEIXEIRA, E. de M.; PASQUINI, D.; CURVELO, A. A. S.; CORRADINI, E.; BELGACEM, M. N.; DUFRESNE, A. Cassava bagasse cellulose nanofibrils reinforced thermoplastic cassava starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 78, n. 3, p. 422–431, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2009.04.034>>.

TEODORO, A. P.; MALI, S.; ROMERO, N.; DE CARVALHO, G. M. Cassava starch films containing acetylated starch nanoparticles as reinforcement: Physical and mechanical characterization. **Carbohydrate Polymers**, v. 126, p. 9–16, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.03.021>>.

THARANATHAN, R. N. Biodegradable films and composite coatings: Past, present and future. **Trends in Food Science and Technology**, v. 14, n. 3, p. 71–78, 2003.

TIBOLLA, H.; MARIA, F.; CECILIA, F. LWT - Food Science and Technology Cellulose nano fibers produced from banana peel by chemical and enzymatic treatment. **LWT - Food Science and Technology**, v. 59, n. 2, p. 1311–1318, 2014. Disponível em:

<<http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2014.04.011>>.

URRUZOLA, I.; ROBLES, E.; SERRANO, L.; LABIDI, J. Nanopaper from almond (*Prunus dulcis*) shell. **Cellulose**, v. 21, n. 3, p. 1619–1629, 2014.

VICENTINI, N. M. **Elaboração e caracterização de filmes comestíveis à base de fécula de mandioca para uso em pós-colheita**. 2003. 2003.

WISE, L. E.; MURPHY, M.; D ADIECO, A. A. A chlorite holocellulose, its fractionation and bearing on summative wood analysis and studies on the hemicelluloses. **PAPER TRADE JOURNAL**, v. 122, p. 35–43, 1946.

YANG, H.; TEJADO, A.; ALAM, N.; ANTAL, M.; VAN DE VEN, T. G. M. Films prepared from electrosterically stabilized nanocrystalline cellulose. **Langmuir**, v. 28, n. 20, p. 7834–7842, 2012.

YUYAMA, L. K. O.; AGUIAR, J. P. L.; YUYUMA, K.; MACEDO, S. H. M.; FÁVORO, D. I. T.; AFONSO, C.; VASCONCELLOS, M. B. A. Determinação de elementos essenciais e não essenciais em palmito de pupunheira. p. 91–95, 1999.

ZDANOWICZ, M.; JOHANSSON, C. Mechanical and barrier properties of starch-based films plasticized with two- or three component deep eutectic solvents. **Carbohydrate Polymers**, v. 151, p. 103–112, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.05.061>>.

ZHANG, L.; WEBSTER, T. J. Nanotechnology and nanomaterials: Promises for improved tissue regeneration. **Nano Today**, v. 4, n. 1, p. 66–80, 2009.

ZHU, F. Composition, structure, physicochemical properties, and modifications of cassava starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 122, p. 456–480, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.10.063>>.